BIDRAG TILL KÄNNEDOMEN

OM

FÄRGÄMNENA I MELANOTISKA SVULSTER.

AFHANDLING

SOM MED TILLSTÅND AF

LÄRAREKOLLEGIET VID KAROLINSKA MEDIKO-KIRURGISKA INSTITUTET

FÖR MEDICINSKA GRADENS ERHÅLLANDE

TILL OFFENTLIG GRANSKNING FRAMSTÄLLES

AF

K. A. H. MÖRNER,

MEDICINE LICENTIAT.



I INSTITUTETS PAT.-ANAT. HÖRSAL DEN 8 MAJ 1886

KL. 11 F. M.

MED 2 TAFLOR.

STOCKHOLM, 1886.

KONGL. BOKTRYCKERIET.

P. A. NORSTEDT & SÖNER.

Bidrag till kännedomen om färgämnena i melanotiska svulster.

Af

K. A. H. MÖRNER
i Stockholm.

Det färgämne, som meddelar de melanotiska svulsterna deras brunsvarta färg, brukar vanligen omtalas under namn af »melanin», ett namn, som anger huru ofullständigt man känner i fråga varande färgämne (eller färgämnen), då det nämligen ej kan sägas vara namn på en bestämd kemisk kropp, utan tvärt om betecknar flera olika sådana med olika ursprung. Så brukar med detta namn benämnas pigment från ögat, från håret, från huden, från patologiska nybildningar, sönderdelningsprodukter af kromoger i urin m. fl. Innan jag öfvergår till redogörelsen för det färgämne, som jag undersökt, vill jag lemna en sammanställning af de resultat, som erhållits vid undersökningar, gjorda af andra forskare, och då ett samband mellan de patologiskt förekommande pigmenten och de normala a priori är sannolikt, måste jag äfven taga hänsyn till dessa senare.

Det svarta pigmentet i ögat. De äldre undersökningarne af detta färgämne, hvilka anföras af BERZELIUS, lemna endast ringa kännedom om det samma och röra sig hufvudsakligen kring dess resistens mot lösningsmedel. BERZELIUS fann det hålla små mängder järn. SIMONS undersökningar gå föga längre; han visade, att det delvis kan lösas i kalilut under utveckling af ammoniak. Såsom ett väsentligt steg framåt mot kännedomen om detta färgämne kan SCHERERS undersökning af dess elementära sammansättning betecknas. Tyvärr kan den af honom använda metoden att isolera pigmentet genom slamning i vatten ej lemna någon säkerhet eller ens sannolikhet för, att det analyserade preparatet var fritt från andra väfnads-

element. De af honom funna värdena för den procentiska sammansättningen voro i medeltal följande: C = 58,28 %, H = 5,92 %, N = 13,77 %. Aska 9,3 %. På närvaro af järn eller svafvel synes han ej hafva pröfvat. Enligt uppgift hos SCHLOSSBERGER håller det i fråga varande pigmentet 0,25 % järn. De af ROSOW utförda undersökningarna synas vara gjorda med mycken omsorg. Han skiljer i morfologiskt afseende på aflånga pigmentkorn, som fylla ut retinalepitelet intill ora serrata, samt runda pigmentkorn, som förekomma i epitelcellerna där framom samt i den egentliga chorioidea. För den kemiska undersökningen skilde han dessa båda slag från hvarandra. Det analyserade preparatet utgjordes af runda pigmentkorn, isolerade genom förruttnelse och genom behandling med koncentrerad ättiksyra. Vid mikroskopisk undersökning visade de sig fria från andra väfnadselement. Den procentiska sammansättningen var: C = 53,97 %, H = 5,32 %, N = 10,12 %, aska 0,6 %. Askan utgjordes hufvudsakligen af kiselsyra, med spår af järn. Svafvel fans ej i preparatet. Nyligen har chorioidalpigmentet blifvit undersökt af SIEBER. Vid isoleringen har han ej skilt retinalepitelets pigment från det, som egentligen tillhör chorioidea. Mot hans sätt att isolera pigmentet kan man anmärka, att han ej aflägsnat blodfärgämnet och att därför möjligheten, att preparatet innehållit sönderdelningsprodukter af hematinet (såsom hematolin) ej är utesluten. Hematolin eller andra sönderdelningsprodukter, skulle möjligen kunna bildas, då färgämnet, enligt hans förfaringssätt kokas med saltsyra (10 %) under 2 timmar. En annan anmärkning, som man äfven kan göra, gäller den närmda behandlingen med saltsyra. Han har nämligen ingalunda bevisat, att ej färgämnet dervid förändras. De af SIEBER erhållna värdena för den procentiska sammansättningen innebära ej heller i sig bevis för att han arbetat med rent material. För pigment ur oxögon fann han C = 60,34—59,90 %, H = 5,02—4,61 %, N = 10,81 %; för pigment ur svinögon C = 58,64 %, H = 5,09 %. Halten af aska varierade mellan 2,15 % och 3,55; anmärkningsvärdt är, att SIEBER liksom ROSOW fann askan till en betydlig del bestå af kiselsyra; någon anledning att misstänka att kiselsyran inkommit i preparatet under beredningen finnes ej. Det af SIEBER analyserade färgämnet var fritt från järn och svafvel. Af det anförda synes, att kännedomen om pigmentet i ögat är mycket ofullständig; de af olika forskare

vunna resultaten öfverensstämma ej med hvarandra, och ingen af dem har kunnat lemna full säkerhet för det undersökta färgämnets renhet, eller att det förelegat i oförändrad form. Att ett genetiskt samband finnes mellan pigmentet i ögat och det i melanotiska svulster är för många fall högst sannolikt, då melanotiska svulster ofta uppstå primärt i ögat, men någon fast grund för kännedomen om svulsternas färgämne kan man ej söka i kunskapen om ögonpigmentet, då detta själft är så ofullständigt kändt.

Ett annat färgämne, hvarom kännedomen, på grund af de melanotiska svulsternas vanliga uppkomst i huden, skulle vara af stort intresse för utredningen af frågan om melanosarkomfärgämnets ursprung, är *färgämnet i huden* (hos negrer och i nævi), men därom känna vi ännu mycket mindre, eller rättare knapt något annat än färgen. FLOYD anser färgämnet i negrernas hud vara järnhaltigt, men den grund hvarpå han stöder sin utsago är bra lös, då han endast grundar sig därpå att huden af negrer lemnar mer aska än huden af hvita, samt att denna aska håller mer järn.

På grund af att melanotiska svulster hos hästar oftast förekomma hos sådana med hvit eller grå färg af håren, har man uttalat den förmodan, att svulstpigmentet är det samma som eller nära slägt med det normala färgämnet i hästarnas hår, samt att det färgämne, som normalt skulle hafva deponerats i håren, genom en abnorm process blifver aflagradt i patologiska nybildningar. Äfven hos människa har man sett företeelser, som tyda därhän[1]). Äfven *färgämnet i håren* af människa gjordes af SIEBER till föremål för hans undersökningar. Svart hår löstes genom kokning med kalilut, hvarvid äfven färgämnet löstes, och lösningen fäldes med ättiksyra. Pigmentet renades genom repeterad upplösning i ammoniak, genom långvarig kokning med saltsyra (5 %), genom behandling med kolsvafla, alkohol och eter från ägghvitekroppar, fett och svafvel. Det var lättlösligt i alkalier, olösligt i vatten, alkohol, eter, kloroform, kolsvafla, var fritt från aska, »alltså fritt från järn», höll svafvel. Elementaranalys gaf följande tal: C = 57,19 %, H = 6,97 %, S = 2,71 %. Ett annat preparat, framstäldt ur en blandning af hår af olika färger, höll C = 56,14 %, H = 7,57 %, N = 8,5 %, S = 4,10 %. Att färgämnet i håret befans vara järnfritt,

[1]) VIRCHOW: Die krankhaften Geschwülste 1864—65. Bd II, s. 274.

är onekligen förvånande, då askan af hår enligt analyser, som anföras af GORUP-BESANEZ[1]), är rik på järn, till och med lika järnhaltig som askan af blod, och man, med den kännedom man har om järnets fördelning inom organismen, i allmänhet är benägen att tro det tillhöra färgämnena, där sådana finnas.

Det svarta färgämne, som förekommer i lungorna och i bronkialkörtlarne synas ej vara af något intresse för den här afhandlade frågan.

Färgämnet i melanotiska svulster undersöktes först af HEINTZ. Färgämnet framställdes ur en kareinomatös svulst från bukhålan, där en stor mängd metastatiska tumörer uppstått efter exstirpation af en melanotisk tumör inom orbita. Det isolerades och renades på följande sätt: väfnaden sönderknådades under vatten, den erhållna bottensatsen tvättades medels dekantering med vatten, kokades därefter upprepade gånger med måttligt stark kalilut, då endast obetydligt af färgämnet löstes, behandlades därefter med alkohol, eter och saltsyra, så länge de löste något. Pigmentet liknade genom sin svårlöslighet i alkalier det i ögat. Preparatet innehöll 1,37 % aska (fosfater); var fritt från järn; huruvida det innehöll svafvel synes ej hafva blifvit undersökt. Elementaranalys gaf för dess procentiska sammansättning följande tal: C = 53,44 %, H = 4,02 %, N = 7,10 %. Den funna kväfvehalten är låg, lägre än hvad efterföljande forskare funnit. En förklaring för detta förhållande kan man söka i den använda reningsmetoden. Såsom SIMON visat, afger chorioidalpigmentet vid behandling med kalilut ammoniak, och det är mycket sannolikt, att det undersökta pigmentet, hvilket till sin löslighet förhöll sig likt chorioidalpigmentet, äfven mot kalilut förhöll sig lika, och att således en förlust af kväfve egt rum vid beredningen. Vidare vill jag påpeka, att färgämnet behandlats med saltsyra (styrkan ej angifven), en sak, som är att taga i betraktande, då man frågar om färgämnet från början varit järnhaltigt, ty, såsom jag längre fram skall visa, afgaf det af mig undersökta järnhaltiga färgämnet med lätthet järn, äfven vid behandling med utspädd saltsyra. I det första af de af DRESSLER (1) undersökta fallen var det äfven en primär svulst i bulben, som framkallat sekundära svulster särskildt i lefvern, hvilken användes för framställning af det undersökta färgämnet. För att isolera det lät han den fint fördelade svulstmassan ruttna under ett års tid,

[1]) GORUP-BESANEZ, Lehrbuch d. Physiolog. Chemie. 3 Aufl. 1874, s. 663.

slammade återstoden med vatten och utfällde med syra det färgämne, som löst sig i den af ammoniak starkt alkaliska vätskan; därefter tvättades färgämnet med ättiksyra och med saltsyra; vidare med alkohol och med eter, hvarefter det i köld och värme behandlades med ammoniak, som borttvättades med vatten. Den erhållna substansen var löslig i kaustika och äfven i kolsyrade alkalier, däremot synes den hafva varit svårlöslig i ammoniak. Pröfning på svafvel gaf negatift resultat. Mängden aska var 1,47 %.[1]) I askan fann han en ej obetydlig mängd kiselsyra, järn, hvars mängd synas hafva varit ungefär 0,2 % af substansen, fosfater m. m. Elementaranalys gaf C = 51,73 %, H = 5,07 %, N = 13,24 %. Om den använda isoleringsmetoden (med ett års förruttnelse) kan kallas god, är mer än tvifvelaktigt, då Dressler i samma uppsats säger, att en del af färgämnet, som ett år förvarats i kalilut, hade blifvit helt och hållet affärgadt. Det analyserade preparatet hade visserligen ej varit under inverkan af kalilut, men starkt ammoniakalisk hade massan varit, och tvifvel om, att han erhållit färgämnet i oförändradt skick, anser jag vara fullt berättigadt; vidare måste det i massan hafva funnits en mängd mikroorganismer, hvilka han ej gjort något för att aflägsna. Resultatet af den gjorda undersökningen anser jag derför vara otillförlitligt. I en senare undersökning (2) har Dressler frångått denna metod, men i stället vändt sig till en annan som, enligt hvad han sjelf synes anse, gifvit honom otillförlitligt resultat. Svulstväfnaden (äfven i detta fall från lefvern) behandlades i värme med stark kalilut; hvad som löst sig, fäldes ut igen med ättiksyra, den torkade fällningen digererades med magsaft, och behandlades därefter med kall och sedan med kokande koncentrerad saltsyra. Till sina egenskaper liknade detta det förut undersökta preparatet, men vid bestämning af kväfvehalten befans denna vara en helt annan nämligen 7,66 %, således nära nog lika med det tal, som Heintz, hvilken använde i det närmaste samma isoleringsmetod, erhöll. Att kväfvehalten denna gång var så låg, anser han bero på den använda isoleringsmetoden.

---

[1]) I Dresslers uppsats står att 0,857 gm gåfvo 0,126 gm aska, hvilket skulle göra 14.7 % aska; sannolikt är detta ett tryckfel och det skall vara 0,0126 gm aska, hvilket ger 1,47 % och öfverensstämmer med hans beräkning af elementaranalysbestämningarne för askfri substans. Å andra sidan kan man då ifrågasätta, huru han kunnat i denna ringa mängd aska bestämma sex ämnen kvantitatift och utföra procenttalen med två decimaler.

Nyligen har färgämne från ett melanotiskt sarkom blifvit undersökt af BERDEZ och NENCKI. Den primära svulsten utgiek från en på ena skuldran befintlig nævus, hvilken utveeklade sig till en tumör, som exstirperades. Kort därefter visade sig teeken till metastas-bildning och samtidigt därmed iakttogs, att huden fick en mörkare färg och att urinen blef mörk. Inom ett år från den primära tumörbildningens början afled patienten, och vid avtopsien visade sig en utveekling af otaliga metastaser i alla organ, och vidare iakttogs, att alla väfnader utom brosk, nerver och muskler hade en brunröd färg. Särdeles rikligt hade metastaserna utveeklat sig i lefvern, som vägde 5,9 kgm och som jämte mjelten var det organ, som togs i arbete för den kemiska undersökningen. Färgämnet i detta melanosarcom har af dem fått namnet *phymatorhusin* deriveradt af *φυμα* svulst och *ῥουσιος* rödbrun. För framställning af pigmentet förforo BERDEZ & NENCKI på följande sätt. Lefvern och mjelten sönderhackades fint, utdrogos med kokande alkohol och därefter med eter, så länge dessa löste något. Därefter utlöstes färgämnet med kalilut af 1 %, fäldes med saltsyra, torkades (till sist vid 110° för att göra ägghvitan mindre löslig i alkali), löstes åter i kalilut och utfäldes med saltsyra. För att aflägsna möjligen kvarvarande ägghvita, kokades det torkade färgämnet 1—2 timmar med saltsyra af 10 %, hvarefter saltsyran uttvättades i preparatet med alkohol och eter samt torkades vid 110°. Mot denna framställningsmetod kan man göra en väsentlig anmärkning, nämligen mot kokningen med saltsyra af 10 %. Phymatorhusinet är, såsom jag längre fram skall visa, visst icke resistent mot en sådan behandling. Phymatorhusinet var olösligt i vatten, alkohol och eter, lätt lösligt i fixa och kolsyrade alkalier samt i ammoniak; ur dessa lösningar fäldes det af syra och löstes något i öfverskott af fällningsmedlet. I kokande saltsyra löstes det något mer och föll vid afsvalning åter ut; det sålunda utfälda färgämnet var lätt lösligt i vatten, men blef vid torkning vid 110° åter olösligt. I kall koncentrerad svafvelsyra löstes det föga, mera i värme och utföll vid spädning med vatten. I urin löstes det något. Lösningarna i alkali visade intet absorptionsband i spektrum, voro vid tillräcklig utspädning till färgen brunröda. Af salpetersyra angreps det lätt; af klor affärgades det lätt i alkalisk lösning. Upphettadt på platinableck utvecklade det en egendomligt sur lukt jämte lukt af pyrrol, men ej lukt af brändt horn. Vid upphettning bildades pyridin. Vid smältning med kali-

hydrat utvecklades en ringa mängd ammoniak; vidare erhöllos som sönderdelningsprodukter skatol, flygtiga feta syror, nitriler, cyanväte, svafvelväte och en svafvelhaltig flygtig organisk syra; fenol bildades ej. Preparatet innehöll utom kol, väte, kväfve (och syre) en betydlig mängd svafvel[1]), ej järn, fosfor eller klor. Vid elementaranalys erhöllos följande värden i medeltal: C = 53,48 %; H = 4,03 %; N = 10,55 %; S = 10,67 %. Att det af BERDEZ och NENCKI undersökta färgämnet ej var identiskt med det som HEINTZ framstält, kan man sluta till af deras olika löslighet, då det förra var lättlösligt i alkalier, det senare däri så godt som olösligt; vidare är den funna kväfvehalten betydligt olika. Äfven är olikheten med de af DRESSLER undersökta färgämnena stor; så var det första af DRESSLER (1) undersökta pigmentet fritt från svafvel och hade högre kväfvehalt; det andra, som DRESSLER (2) arbetat med, hade lägre kväfvehalt, och synes dessutom hafva varit betydligt svårlösligare i ammoniak. NEPVEU har vid mikrokemisk undersökning af ett melanosarkom funnit att färgämnet är lösligt i soda. Salpetersyra skall efter par dygns inverkan öfverföra det till svarta krystaller.

För jämförelsens skull hafva DRESSLER (2) och BERDEZ & NENCKI undersökt färgämnet *i melanotiska svulster från hästar*. DRESSLER (2) använde samma framställningsmetod, som vid sin andra undersökning af det analoga pigmentet från människa. Färgämnet var föga lösligt i kalilut, gaf en fosforsyrehaltig aska, som var nästan fri från järn och fullt fri från kiselsyra. Det var fritt från svafvel, C = 46,44 %; H = 4,22 %; N = 10,23 %. BERDEZ & NENCKI hafva åt i fråga varande färgämne gifvit ett nytt namn, nämligen hippomelanin. De af dem undersökta preparaten framstäldes[2]) genom att koka den sönderhackade svulstmassan med kalilut (1 %), då cellsubstansen löstes och pigmentkornen frigjordes. Vid filtrering gingo pigmentkornen till börja med genom filtrum. Ur det varma filtratet afsatte sig en del af färgämnet såsom sediment, hvilket tillvaratogs särskildt. Det mesta af färgämnet var i det alkaliska filtratet dels löst dels uppslammadt; detta fäldes med saltsyra i kokning. Både det såsom sediment och det genom fäll-

[1]) Då BERDEZ & NENCKI säga, att svafvelhalten i färgämnet från melanotiska svulster blifvit förbisedd af föregående forskare, är det så till vida ett förbiseende, som DRESSLER uttryckligen säger om det färgämne, som han först undersökte, att det ej håller svafvel.

[2]) Beskrifningen af framställningsmetoden är något oklar.

ning erhållna färgämnet kokades med saltsyra (10 %) för att aflägsna ägghvita. Hippomelaninet var olösligt i alkalier i köld. Därigenom äfvensom genom en större resistens mot smältande kalihydrat skilde det sig från det undersökta phymatorhusinet. Det var fritt från järn, klor och fosfor; höll en rätt betydlig mängd svafvel. Vid analys gaf det genom utfällning erhållna preparatet (a) i medeltal C = 53,60 %; H = 3,88 %; N = 10,48 %; S = 2,84 %; det såsom sediment erhållna (b) C = 55,61 %; H = 3,82 %; N = 10,87 %; S = 2,81 %.

För bättre öfversigts skull sammanställer jag i tabellarisk form resultaten af de utförda analyserna.

Tab. 1.

	C %.	H %.	N %.	S %.	Fe %.
Pigment ifrån ögat.					
SCHERER	58,28	5,92	13,77	?	?
SCHLOSSBERGER	—	—	—	—	0,25
ROSOW	53,97	5,32	10,12	0	spår
SIEBER, oxögon	60,12	4,81	10,81	0	0
svinögon	58,64	5,09	—	0	—
Pigment från hår.					
SIEBER, svart hår	57,19	6,97	—	2,71	0
hår af olika färger	56,14	7,57	8,5	4,10	0
Pigment ur svulster från människa.					
HEINTZ	53,44	4,02	7,10	?	0
DRESSLER (1)	51,73	5,07	13,24	0	0,21
DRESSLER (2)	—	—	7,66	?	?
BERDEZ & NENCKI (Phymatorhusin)	53,48	4,03	10,55	10,67	0
från hästar					
DRESSLER (2)	46,44	4,22	10,23	0	spår
BERDEZ & NENCKI (Hippomelanin)	53,60	3,88	10,48	2,84	0
	55,61	3,82	10,87	2,81	0

Altsedan EISELT (i Prag) påpekade, att urin från personer med melanotiska svulster kan förete vissa egendomligheter, har den varit föremål för flere iakttagares uppmärksamhet. I fyra fall, som EISELT haft tillfälle att observera, fann han påfallande egendomligheter i urinen, hvarpå hans uppmärksamhet först fästades då han skulle pröfva en urin af höggul färg (eg. v. 1,007—1,015) på gallfärgämnen; vid första droppe af den starka

salpetersyran, som föll i urinprofvet, blef detta ögonblickligen svart. Äfven vid inverkan af andra reagens än konc. salpetersyra t. ex. kaliumdikromat med svafvelsyra kunde samma reaktion erhållas. Lika så, om urinen fick stå någon tid i luften, blef den mörk som porter. Detta först undersökta fall var en patient med carcinoma bulbi och lefverkräfta. Det andra var ett hudkarcinom (sarkom?) med talrika metastaser till inre organ; den anförda urinreaktionen var mindre tydlig. I det tredje fallet var det fråga om en patient som vårdades under diagnos lefverkancer; vid undersökning af urinen erhöll EISELT den nämnda reaktionen och stälde på grund deraf diagnos på melanotisk svulst, hvilket vid obduktionen bekräftade sig. Urinen, som samlades dagen före döden, var ljusgul och höll sig oförändrad, då den förvarades skyddad för ljuset och luften; med konc. salpetersyra eller kromsyra blef den genast svart; ett senare taget urinprof blef af sig sjelf svartbrunt. I det fjärde fallet (som ej kom till sektion) förefunnos subcutana blåaktigt genomskimrande knölar; samt lefver- och mjelt-tumör. Urinen var alltid mörkfärgad och blef med konc. salpetersyra ögonblickligen svart. Angående den kromogena substansens förhållande till fällningsmedel lemnar EISELT (2 sid. 41) några upplysningar. Om urinen fälles med neutralt blyacetat, denna fällning frånfiltreras och filtratet fälles med basiskt blyacetat, så erhåller man en hvit fällning, som i beröring med luften och utsatt för ljuset antager brun till svart färg; om fällningen sönderdelas, så erhålles en nästan ofärgad lösning, som likaledes färgar sig brun till svart i ljuset. Sedermera har (äfvenledes i Prag) urinens förhållande i ett fall af melanotisk svulst i bulben (metastaser synas ej hafva förekommit) blifvit undersökt af PŘIBRAM. Urinen var gulbrun, eg. v. 1,035, färgade sig i luften mörkare, ända till brunsvart, likaså vid tillsats af rykande salpetersyra, eller kaliumdikromat jämte svafvelsyra. Den substans, som därvid gaf upphof till färgen, följde ej med i barytfällning, men fäldes nästan fullständigt af neutralt blyacetat, så att filtratet ej gaf mer än spår af reaktionen med rykande salpetersyra eller kromsyra. Efter sönderdelning af blyfällningen med vätesvafla erhöls ett färglöst filtrat, som vid afdunstning på vattenbad lemnade en brunsvart amorf återstod, hvilken var olöslig i vatten, kall alkohol och eter, men löstes åtminstone delvis i kokande alkohol; askan var järnhaltig; i den undersökta urinen fans ej någon större mängd indigobildande substans. De grunder

hvarpå PŘIBRAM stödjer sin utsago, att det ifrågavarande färgämnet varit mycket nära slägt med det färgämne, som DRESSLER (1) framstält ur melanotiska svulster, synes mig vara mycket otillfredsställande, liksom jag ej anser det bevisadt att ifrågavarande urin innehållit något abnormt färgämne. I alla händelser förhöll det sig ej till fällningsmedel på samma sätt, som EISELT beskrifvit.

Att urinen i fall af melanotiska svulster innehåller något färgämne, som kan förmodas vara identiskt med det i svulsterna, eller ens håller något abnormt färgämne har från åtskilliga håll blifvit bestridt. Så i en uppgift från Prag, hvarest dessa saker först blifvit föremål för undersökning, nämligen af DRESSLER (2 sid. 68), hvari han säger att samma förhållande till oxiderande reagens har man äfven sett hos urin af marastiska personer, som ej haft någon melanotisk svulst; vidare säger han, att han ur den bruna urinen från personer med melanotisk kräfta förgäfves sökt utfälla något melanin med ättiksyra eller saltsyra. HOPPE-SEYLER anser, att den nämnda reaktionen med oxidationsmedel ej beror på närvaro af något abnormt färgämne i urinen, utan hvad som är egendomligt för urin från patienter med melanotiska svulster är rikedomen på kromogener, som i mindre mängd finnas äfven i normal urin. Han påpekar, att hvarje urin blir mörk vid uppvärmning med salpetersyra, ehuru ej i sådan grad som det brukar vara händelsen vid fall af melanotiska svulster. På grund af ett fall af melanotiskt karcinom i bulben, hvarvid han undersökte urinen, anser han, att mörkfärgningen med oxidationsmedel till en del beror på bildning af indigo (en sak som äfven DRESSLER, 2 sid. 68, synes hafva iakttagit). Med den mörka färg, som bildas i beröring med luften, skall det deremot ej vara fallet utan denna bero på bildning af ett brunfärgadt, järnfritt kväfvehaltigt färgämne, som är lätt lösligt i vatten och i alkohol, ur hvilka lösningar det kan fällas med klorbaryum och ammoniak; något absorptionsband gaf detta färgämne ej; det undersöktes ej vidare. Äfven VIRCHOW antager, att urinen i fall af melanotiska svulster icke innehåller något specifikt färgämne. Han anser det mycket möjligt att kromaturien beror, icke på bildningen af melanotiska svulster, utan därpå, att lefvern så ofta är plats för deras utveckling och att genom rubbningar i dess funktioner abnormiteter med afseende på urinfärgämnena uppstå och anser det ej sannolikt att samma färgämne förekommer i svulsterna och i urinen.

För att vinna klarhet i dessa frågor hafva Ganghofner & Přibram under loppet af nära två månader noggrant följt ett fall med multipla melanotiska svulster, hvilket fall sedermera kom till sektion. Temperatur, puls, respiration, kroppsvigt, urinens mängd och specifika vigt, uppträdande af reaktionen med oxidationsmedel, dess halt af indigogifvande substans samt mängden och beskaffenheten af fæces iakttogos och antecknades. Urinen gaf ej alltid den nämnda reaktionen. Dess framträdande var oberoende af puls- och respirationsfreqvens samt af öppningarnes tal och beskaffenhet. Reaktionen visade sig ej bero på en bildning af indigo, ty mängden indigobildande substans var visserligen relatift ökad (emedan urinmängden var ringa), men dess mängd under 24 timmar var ej ökad och vidare erhöls indigoreaktionen bäst, sedan man med blysocker aflägsnat kromogenet. Med temperaturen vexlade uppträdandet och försvinnandet af reaktionen så till vida, att mängden låten urin blef mindre, då temperaturen steg. Med urinens mängd under 24 timmar varierade reaktionen; vid liten urinmängd (175—520 kcm.) och hög egentlig vigt (1,025—1,030) gaf urinen reaktionen, medan den deremot uteblef, då urinmängden närmade sig det normala till mängd (500—1410 kcm.) och egentlig vigt (1,014—1,025). Om den koncentrerade urinen utspäddes med vatten tills den till färgen liknade en blek urin, kunde reaktionen ännu tydligt iakttagas. Något samband mellan urinreaktionen och störd lefverfunktion kan man i detta fall ej antaga, ty vid avtopsien visade sig, att den var föga angripen (endast en valnötstor tumör). (I fall af flera andra sjukdomar, där lefverns substans varit i stor utsträckning förstörd, hafva förf. ej erhållit någon anmärkningsvärd reaktion i urin.) Såsom skäl för den åsigten, att reaktionen icke beror på en relatift ökad mängd af normalt urinfärgämne, utan på närvaro af ett specifikt färgämne, anföra de, att reaktionen med kromsyra syntes tydligt, äfven om urinen späddes tills den ej var starkare färgad än normal urin, vidare att den nämnda reaktionen aldrig uppträder annat än vid fall af melanotiska svulster, samt slutligen att de ur kalkfällningen kunnat framställa (huru uppgifves ej) ett svart, pulverformigt amorft färgämne, som var olösligt i alkohol och eter, kall saltsyra och salpetersyra, af varm salpetersyra angreps, men ej affärgades, och af varm kalilut och klor delvis löstes och affärgades, hvilket färgämne de anse härleda sig från pigmentet i svulsterna. Att färgämnet i svulsterna under någon form kan

öfvergå i blodet och sålunda bör kunna förekomma i urinen sluta de till deraf, att dels i det af dem iakttagna fallet, dels i några andra citerade fall, ganska stora tumörer resorberats och spårlöst försvunnit. Utom i de ofvan anförda fallen har urinreaktionen äfven blifvit iakttagen i andra af GANGHOFNER & PŘIBRAM citerade fall.

Såsom resultat af de nu relaterade undersökningarna kan man anse det framgå: att urin af personer med melanotiska svulster ganska ofta ger en mörkfärgning vid tillsats af konc. salpetersyra, kaliumdikromat med svafvelsyra eller fri kromsyra, äfvensom då den får stå i beröring med luften utsatt för ljuset; att det ej är till fullo afgjordt, om detta förhållande beror på abnormt stor mängd af de i normal urin befintliga kromogenerna, eller om det bildade färgämnet är specifikt för fall af melanotiska svulster; ännu mindre utredt är det naturligtvis i hvad förhållande det står till färgämnet i svulsterna.

Vid fall af melanotiska svulster har man vidare iakttagit karakteristiska pigment i form af korn i urinen (och blodet). Så har EISELT (1 sid 110) i ett fall, der metastaser bildat sig i njurarna sett pigmenthaltiga svulstdelar i urinen. EBERTH har sett melanosarkomelement i glomeruli och äfven inne i urinkanalerna. NEPVEU har i urin funnit agregat af pigmentkorn, stundom i form af cylindrar. (Urinen gaf reaktion med salpetersyra och med kaliumdikromat.) Uti njurarna eller urinvägarne funnos ej några metastaser, men i urinkanalernas epitel syntes en svag sepiafärg, som vid stark förstoring visade sig bero på en svartaktig finprickighet. I blodet från samma patient fann han agregat af pigmentkorn, som stundom bildade cylindrar, hvilka gåfvo intryck af att härstamma från kapillärerna. (De röda blodkropparne voro ej förändrade, antalet hvita ökadt.)

Jag öfvergår nu till redogörelsen för det af mig iakttagna fallet.

Patienten var en 36 års man, jordbruksarbetare, rödhårig. På våren 1884 iakttog han, att ett födelsemärke på ena skuldran växte och utvecklade sig till en svulst; några månader därefter märkte han några subcutana tumörer å nedre extremiteterna; sedermera uppstodo oupphörligt nya tumörer, så att, då han i midten af mars 1885 intogs på serafimerlasarettet, deras antal var betydligt. På serafimerlasarettet vårdades han (med undantag af en månad under sommaren, då han

var utskrifven) från midten af mars 1885 till den 30 okt. 1885, då han afled efter flera epileptiska anfall. Urinen var under hela denna tid klar, rätt starkt färgad (ungefär som en feberurin); hade sur reaktion; mängden var till början med 1000—1200 kem., men mot slutet, då pat. under någon tid haft diarré, var dess mängd mindre (600—700 kem.) och dess färg starkare. Eg. vigten varierade mellan 1,020 och 1,028. Några, för blotta ögat synbara, sediment afsatte den ej, och någon mikroskopisk undersökning blef tyvärr ej företagen. Under denna tid pröfvades urinen upprepade gånger (äfven då den var som mörkast) med Eiselts reaktion, men alltid med negatift resultat. Med kromsyra blef färgen endast obetydligt mörkare, äfven vid kokning. Med salpetersyra försatt med rykande salpetersyra blef den visserligen mörkare, särskildt vid uppvärmning på vattenbad, men om den försattes med saltsyra till 5—10 % HCl (såsom Plósz angifver) och uppvärmdes på vattenbad, blef den lika mörk som med salpetersyran. Om den späddes med vatten, så att den hade samma färgstyrka som ett prof af en mörkfärgad normal urin, samt båda profven försattes med ungefär samma mängd syra (HCl eller HNO^3) och uppvärmdes på vattenbad, kunde ej någon mörkare färgning i urinen från melanosarkompatienten iakttagas. Ej heller iakttog jag någonsin, att den, då den fick stå i luften, blef mörkare än hvad man på grund af dess koncentration kunde vänta. Någon antydan till Eiselts reaktion kunde jag således aldrig iakttaga. Urinen var ägghvitefri (utom möjligen sista dagen, då pat. hade epileptiforma anfall); var fri från socker. På blodfärgämne och gallfärgämne pröfvades den några gånger med negatift resultat. Urobilin fans föga i urinen eller åtminstone ej i någon anmärkningsvärd mängd. Om urinen surgjordes med saltsyra och (äfven efter föregående uppvärmning) skakades med finkelolja, gaf denna ej något urobilinspektrum, och om blysockerfällningen sönderdelades med soda, sodalösningen surgjordes med svafvelsyra, samt mättades med magnesiumsulfat, då den största mängden färgämne föll ut, kunde ej urobilin upptäckas i fällningen, sedan den blifvit löst i svafvelsur sprit; i det med magnesiumsulfat mättade filtratet syntes ett svagt urobilinband. Under de sista sex veckorna af patientens lif samlades urinen dag efter dag och fäldes med barytvatten, så länge någon fällning uppstod, och det alkaliska filtratet fäldes med blysockerlösning, så länge fällning bildades. Dessa fällningar samlades och undersöktes, för hvilka arbeten redogöres längre fram.

I blodet iakttogos med mikroskopet inga abnormiteter; inga pigmentkorn syntes der, ingen förändring af de röda och de hvita blodkropparnes färg eller form förefans. D. $^{17}/_{4}$ 1885 bestämdes hemoglobinhalten spektrofotometriskt och befans den vara = 15,4 %. Blodkroppsräkning utförd den $^{20}/_{3}$ 85 hade visat 5,350,000 röda blodkroppar på 1 kub.-mm., samt 1 hvit på 500 röda. D. $^{5}/_{10}$ 1885 bestämdes åter hemoglobinhalten och var då = 14,7 %. Samtidigt utförd blodkroppsräkning visade 5,800,000 röda blodkroppar på kub.-mm. För att erhålla blod till dessa undersökningar gjordes med bistouri ett instick i fingerblomman, så stort, att några droppar blod med lätthet utflöto. För hemoglobinbestämning har jag brukat upp-

samla ett par droppar blod i ett spetsglas, hvarefter jag med en lämplig pipett afmätt en del och spädt den med sodalösning (femtiondedels normal) till 100 volymer, då blodet vid normal hemoglobinhalt erhålles i lämplig utspädning för utförande af den spektrofotometriska undersökningen [1]. Den filtrerade blodlösningen togs i en absorptionscell af SCHULTZ' modell (VIERORDT 3 s. 116), hemoglobinhalten bestämdes med HÜFNERS spektrofotometer. Spektrum undersöktes i regionerna D 32 E—D 54 E och D 64 E—D 86 E eller i våglängder [2]) uttryckt i regionerna med våglängd $^{567}/_{1000000}$ mm.—$^{553}/_{1000000}$ mm. och $^{547}/_{1000000}$ mm.—$^{534}/_{1000000}$ mm. eller med ett enklare skrifsätt, som jag i det följande kommer att begagna, regionerna: vågl. = 567—553 och vågl. = 547—534. För mitt instrument voro de optiska konstanterna för oxyhemoglobin, framställdt ur hundblod och kristalliseradt en gång, resp. $A = 0{,}0018$ och $A_, = 0{,}0013$.

En sak, som jag anser mig böra anmärka, ehuru jag ej vågar framhålla den såsom ett tecken, att oxyhemoglobinet hos ifrågavarande patient varit af abnorm beskaffenhet, är förhållandet mellan A och A' (eller närmast det omvända förhållandet mellan de motsvarande extinktionskoefficienterna), hvilket gaf ett något högre tal, än jag annars brukat finna; detta tal var nämligen vid undersökning af tre olika blodprof resp. 1,46; 1,45; 1,50, under det jag vid undersökning af annat blod fått lägre värden för motsvarande förhållande: så för mitt eget blod 1,40; 1,37 för blod från en patient med höggradig (perniciös) anæmi + colitis + ulcera ilei 1,42; 1,41; 1,39; 1,37; för blod från en patient med akut anæmi 1,40; 1,36; för blod från en person med interstitiel nefrit och anæmi 1,39; för det oxyhemoglobin ur hundblod, som användts för att bestämma de optiska konstanterna 1,38. Alla dessa tal äro ej obetydligt mindre än de för melanosarkompatientens oxyhemoglobin funna talen. Att detta ej kan bero på närvaro i blodet af svulstpigmentet är säkert, ty dess närvaro skulle hafva haft alldeles motsatt inflytande på det ifrågavarande talet.

Patienten afled den $^{30}/_{10}$ 85. Obducerades den $^{2}/_{11}$ 85. Vid obduktionen funnos otaliga metastatiska melanosarkom spridda på olika håll. De organ, hvilkas omnämnande kan vara af intresse för den här föreliggande undersökningen, äro lefvern och njurarna. I lefvern hade en rätt riklig metastasbildning utvecklat sig, men dock ej i så hög grad, att ej större delen af lefverparenkymet var oskadadt. Den ena njuren var fri från metastaser. Den andra njurens kapsel sammanhängde med en knytnäfstor tumörmassa, men sjelfva parenkymet var ej alls indraget i tumörbildningen. Urinvägarne voro fria från metastaser. Den $^{3}/_{11}$ och $^{4}/_{11}$ erhöll jag genom Professor KEYS tillmötesgående tillfälle att för mina undersökningar tillvaratagа en del sar-

[1]) Om ett koagulum bildar sig under afmätningen af blodet, brukar det ej hindra bestämningen, ty inom kort utlöses hemoglobinet derur.

[2]) De våglängder, skaldelarna på alhidaden motsvara, har jag bestämt genom att i solspektrum bestämma läget af hufvudlinierna, samt de lättare bestämbara mellanliggande linierna, samt inpricka de sålunda funna våglängderna på en skala med alhidadens skaldelar och våglängderna såsom abskissa och ordinata, samt förena dem till en kurva, hvilken då för hvarje skaldel anger den motsvarande våglängden.

komatösa lymtkörtlar och tumörer i underhudsbindväfven, tillsammans 200—300 gm.

Innan jag öfvergår till redogörelsen för undersökningen af det samlade materialet, ur urinen: fällningarne för barytvatten och för blyacetat, samt svulsterna, vill jag i hufvudsak redogöra för gången af undersökningen samt omnämna, huru jag tillgodogjort mig den spektrofotometriska undersökningsmetoden.

Färgämnelösningarne gåfvo inga absorptionsband i spektrum utan endast en mot den violetta delen af spektrum jämt tilltagande absorption. För ett färgämne, som ger ett så beskaffadt absorptionsspektrum är den spektrofotometriska undersökningen i olika spektralregioner af stort intresse. Man kan därigenom utröna i hvilken proportion färgämnet absorberar ljusstrålar af olika våglängd och, då pigmentlösningens färg utgöres af de ljusstrålar den genomsläpper, eger man i spektrofotometrien ett medel att objektivt, nämligen genom siffror eller med en kurva, angifva färgen. Lösningar af två olika färgade pigment kunna ej genomsläppa alla olika ljusstrålar i samma relativa mängder. De tal som, ge ett uttryck för relationen mellan den absorberade (resp. genomsläpta) mängden ljus af olika våglängd, och den af dessa tal resulterande kurvan blifva för olika färgämnen olika och mera olika ju större skilnaden i deras färg är. Om man lyckas erhålla färgämnet rent, kan man genom spektrofotometrien fastställa äfven en annan karakter hos färgämnet, nämligen dess färgstyrka, som är omvändt proportionel mot absorptionsförhållandet, hvilket för hvarje spektralregion erhålles genom att dividera lösningens koncentration (uttryckt i gm på 1 kcm.) med den för de olika spektralregionerna funna extinktionskoefficienten. Denna undersökning kan äfven lemna en god hållpunkt för att afgöra, om ett färgämne är rent. Om två färgämnepreparat, beredda af helt olika material, visa sig hafva samma färg, d. v. s. samma relativa ljusabsorption i olika spektralregioner, och vidare samma färgstyrka d. v. s. samma absorptionsförhållande i en viss spektralregion (då det naturligtvis äfven i öfriga regioner är lika), om med ett ord de båda preparaten i båda dessa afseenden visa sig vara öfverensstämmande, så kan man deraf med största sannolikhet draga två vigtiga slutsatser, nämligen dels att de äro identiska och dels att de båda äro rena, en sak som det är mycket svårt att på annat sätt leda i bevis, då det, såsom härvidlag, är fråga om färgämnen, som ej äro kristalliserbara och ej gifva några

bestämda föreningar. Det är nämligen knapt tänkbart att två olika färgämnen, eller att af samma färgämne två preparat, blandade med olika slag af föroreningar (andra färgämnen och ofärgade substanser) i dessa afseenden kunna öfverensstämma. Man bör då äfven vid elementaranalys finna samma procentiska sammansättning af de båda preparaten, eller, om man därvid finner endast någon mindre olikhet, bör det vara berättigadt att anse olikheten bero på en oväsentlig förändring af färgämnet eller på närvaro af en obetydlig (men också endast obetydlig) inblandning af främmande ämnen. Det är denna tankegång, som legat till grund för mina undersökningar af de färgämnepreparat, jag framstält ur urinen och ur svulsterna från patienten i fråga.

För den spektrofotometriska undersökningen har jag liksom vid oxyhemoglobinbestämningarna användt Schultz' absorptionscell och Hüfners spektrofotometer, och kan jag ej annat än uttala min tillfredsställelse dermed. I ett afseende tror jag dock att Vierordts apparat skulle vara bättre. I det Hüfnerska instrumentet går nämligen en stor del af ljuset förlorad genom polarisationen, hvarför undersökningen blifver mycket försvårad i den starkare brutna delen af spektrum, som vid användande af petroleumlåga såsom ljuskälla från början är ljussvag. Jag har därför ej heller kunnat utsträcka undersökningen längre än till omkring midten mellan linierna F och G och, såsom det synes af kurvorna, har den precision hvarmed undersökningen kunnat utföras, aftagit i de regioner, som varit belägna i denna del af spektrum.

Undersökningen har jag utfört på följande sätt. En tillräckligt stor kvantitet (ett par cgm) af färgämnet torkades vid 100—105° till konstant vigt, löstes i en afmätt volum natronlut $N/_{10}$, så att jag erhållit en lösning af lagom färgstyrka för att undersöka i den röda delen af spektrum, hvarest ljuset absorberats minst. Den filtrerade lösningens spektrum har jag därefter undersökt i närgränsande regioner, fortgående från rödt mot blått. Då jag kommit till en region, där absorptionen varit så stark, att serien ej vidare kunnat fortsättas, har jag spädt ut lösningen med destilleradt vatten (vanligen lika volum) och med denna utspädda lösning fortsatt undersökningsserien. Vid inställande till likhet i båda spektra har jag alltid försökt träffa midten af den afgränsade spektralregionen, hvarför jag också refererar alla sifferuppgifter om regionens läge till regionens

midt, ehuru vanligen hvarje region omedelbart gränsat till den närmast förut eller efteråt undersökta. För hvarje region har jag gjort 4 inställningar och afläsningar, två åt hvar sida, och af dessa fyra gradtal tagit medeltalet såsom vridningsvinkel för den undersökta regionens midt, samt därur beräknat extinktionskoefficienten, hvarvid jag för de regioner, där jag undersökt en utspädd lösning, multiplicerat den funna extinktionskoefficienten med talet, som anger utspädningen, och sålunda beräknat extinktionskoefficienten för den ursprungliga lösningen. Man erhåller således en serie af tal, hvilka angifva extinktionskoefficienten för en kontinuerlig följd af spektralregioner. Denna serie af extinktionskoefficienter kan naturligtvis ej omedelbart jämföras med motsvarande serie för en annan färgämnelösning, utan för det ändamålet måste man skaffa dem en gemensam utgångspunkt eller, om man tänker på de kurvor, som återgifva nämnda serier, måste man för två motsvarande punkter af kurvorna reducera dem till samma höjd öfver abskissan och beräkna de öfriga extinktionskoefficienterna i proportion till denna. Om man för två sådana serier af extinktionskoefficienter sätter extinktionskoefficienten för en viss spektralregion lika med 100 och omräknar de öfriga talen till proportion mot denna enhet, så erhåller man två serier af relativa extinktionskoefficienter, af hvilka man för hvarje undersökt spektralregion kan se, huru mycket ljus den ena färgämnelösningen genomsläpper (resp. absorberar) i jämförelse med den andra. Såsom utgångspunkt kan man naturligtvis välja hvilken spektralregion som hälst. Den region jag valt, är regionen D 38 E, motsvarande en våglängd af $^{562}/_{1000000}$ mm., för hvilken jag bestämt mig, dels därför, att denna region är bland de lättare att undersöka spektrofotometriskt (då det naturligtvis är af vigt att utgångspunkten för jämförelsen mellan de olika färgämnelösningarne är bestämd så säkert som möjligt), dels emedan ljusabsorptionen i denna region är starkare än i andra regioner, som skulle kunna komma i fråga, hvarför beräkningen af absorptionsförhållandet gifver möjligast säkert tal för denna region, vidare därför att denna region i det närmaste sammanfaller med den ena af de regioner, som jag undersökt i oxyhemoglobinets spektrum, hvarför talen för denna region möjliggöra en direkt jämförelse mellan färgkraften hos melanosarkomfärgämnena och den hos oxyhemoglobinet.

De tal, som ange den relativa extinktionskoefficienten i olika delar af spektrum, lemna den bästa öfversigten, om de framställas grafiskt. Jag bifogar därför kurvor för de olika försöksserierna, i hvilka kurvor ordinatvärdena ange den relativa extinktionskoefficienten och abskissan spektralregionerna uttryckta genom våglängden[1]) angifven i milliondels millimeter. För tydlighetens skuld har jag för kurvor, som tillhöra olika preparat, förlagt abskissan på olika höjd, såsom de bredvid kurvorna angifna ordinatvärdena visa.

En annan undersökningsmetod, likaledes spektrofotometrisk, som jag användt vid analysen af alla färgämnepreparaten, anser jag mig äfven böra på förhand redogöra för, det är nämligen den metod, jag användt för järnbestämningarna. Då mängden järn i alla färgämnepreparaten var obetydlig (omkr. $^1/_5$ %) och mängden färgämne, jag erhållit både ur svulsterna och ur urinen, var mycket begränsad (största mängden jag hade af något preparat var 2 $^3/_4$ gm, af andra mindre än $^1/_2$ gm), skulle en järnbestämning enligt de vanliga vigtanalytiska eller titrimetriska metoderna hafva varit ytterst vansklig eller rent af outförbar, äfven om jag förbrukat alt mitt material för detta ändamål (i det preparat, hvaraf jag hade mäst, fans i alt 5 mgm järn). Jag var därför nödsakad att skaffa mig en metod för att med nöjaktig säkerhet kunna bestämma järnet, äfven om dess mängd var minimal, och dervid har spektrofotometern varit mig till särdeles stor nytta.

VIERORDT (2, s. 61) har spektrofotometriskt undersökt järnrhodanidens absorptionsspektrum för att med de däraf erhållna data bestämma mängden rhodan i saliven.

Den lösning, som skulle undersökas, gjorde han sur med saltsyra (huru starkt sur angifves ej) och försatte den med järnammoniakalun. Då han säger (s. 65), att man naturligtvis genom att tillsätta rhodankalium till en järnoxidsaltlösning och undersöka den bildade järnrhodanidens spektrum kan bestämma järnet kvantitatift, så frestas man att tro, att man helt enkelt behöfver göra lösningen sur med saltsyra och tillsätta

[1]) Jag har föredragit denna metod att angifva ortbestämningarna i spektrum framför den att använda instrumentets skaldelar (med de FRAUNHOFERska linierna inprickade) såsom abskissa, emedan resultaten därigenom blifva oberoende af de individuela egendomligheterna hos det af mig använda instrumentet (såsom prismernas refraktion och skalans indelning). Att lägga det af STOKES och VALENTIN införda beteckningssättet (att dela afståndet mellan två FRAUNHOFERska linier i 100 delar) till grund för uppritning af en kurva faller sig rätt obeqvämt.

rhodankalium, så mycket som behöfves för att bilda järnrhodanid med det förefintliga järnsaltet. Fullt så enkelt förhåller det sig ej, utan det är en omständighet, som man har att taga hänsyn till, om man vill erhålla konstanta resultat, nämligen den fria saltsyrans inflytande på bildningen af järnrhodanid. Som bekant måste lösningen, för att färgen af järnrhodanid skall framträda, vara sur af en mineralsyra, men å andra sidan kan fri saltsyra inverka på styrkan af färgen, så att den vid närvaro af en större mängd fri saltsyra blifver svagare än vid en lägre syregrad.

Innan jag påpekar de felkällor, hvilka jag funnit kunna göra den spektrofotometriska bestämningen af järnet såsom järnrhodanid osäker och sättet att eliminera dem, vill jag redogöra för metoden sådan jag utarbetat den och funnit den lemna goda resultat. För att fastställa den spektrofotometriska konstanten för järn i form af järnrhodanid, bestämde jag i en lösning af järnklorid mängden järn genom vigtanalys. Af denna lösning, som höll 0,32 % järn, försattes 25 kcm. med 2 droppar HCl (25 %), så att den gulbruna färgen af den något basiska järnkloriden blef rent gul, samt späddes därefter till 500 kcm., då järnhalten således blef 0,016 % Fe. Delar af denna lösning afmättes och utspäddes, så att dess koncentration var lämplig för den spektrofotometriska undersökningen, genom tillsats af vatten och så mycket saltsyra att mängden HCl skulle blifva 0,5 %, sedan den afmätta mängden rhodankaliumlösning blifvit tillsatt. Rhodankalium användes i lösning af 20 % (efter volum räknadt) och deraf tillsattes så mycket, att dess mängd var mer än tillräcklig för att omsätta sig med den fria saltsyran; af den nämnda rhodankaliumlösningen har jag därför brukat tillsätta så mycket att den utgjorde $^1/_8$ af hela blandningen (sur af HCl 0,5 %). Därefter filtrerades lösningen och undersöktes spektrofotometriskt. Bestämningarna utförde jag i tre olika regioner, för att sedan vid metodens tillämpning kunna röra mig inom vidare gränser. Ljusabsorptionen i järnrhodanidens spektrum tilltager nämligen ganska starkt mot den violetta delen af spektrum, hvarför en lösning, hvars koncentration ej tillåter undersökning i den ena delen af spektrum, kan vara passande för undersökning i en annan region. De undersökta regionerna hafva varit:

C 92 D — D 12 E — midten = våglängd 587.
D 49,4 E — D 67 E — midten = våglängd 550.
E 45 F E 65 F — midten = våglängd 503.

Tab. 2.

N:r.	Koncentration. Gm Fe på 1 kcm.	Extinktionskoefficient.			Absorptionsförhållande.			$A_{,}/A_{,,}$	$A_{,,}/A_{,,,}$
		Vågl. = 587 $\varepsilon_{,}$.	Vågl. = 550 $\varepsilon_{,,}$.	Vågl. = 503 $\varepsilon_{,,,}$.	Vågl. = 587 $A_{,}$.	Vågl. = 550 $A_{,,}$.	Vågl. = 503 $A_{,,,}$.		
1	0,00001	0,357	0,710	1,174	0,0000280	0,0000141	0,0000085	1,99	1,65
2	0,00001	0,377	0,745	1,245	0,0000266	0,0000134	0,0000080	1,98	1,67
3	0,00002	0,761	1,556	—	0,0000263	0,0000129	—	2,04	—
4	0,000005	0,220	0,415	0,713	0,0000227	0,0000120	0,0000070	1,88	1,72
5	0,00001	0,386	0,778	1,329	0,0000259	0,0000129	0,0000077	2,01	1,67
6	0,00001	0,387	0,823	1,408	0,0000258	0,0000121	0,0000071	2,12	1,71
				Medeltal =	0,000026	0,000013	0,0000077	2	1,7

För att lemna en kontroll, dels öfver undersökningarna i de olika regionerna, dels äfven att det varit samma rhodanförening, som jag i hvarje fall undersökt, angifver jag äfven relationen mellan absorptionsförhållandet (resp. extinktionskoefficienten) i de olika regionerna. Koncentrationen angifves i gm Fe på 1 kcm. och talen för absorptionsförhållandet afse naturligtvis detta beteckningssätt. Se tab. 2.

Som bekant är järnrhodaniden rätt obeständig och, om lösningen får stå, bleknar den af. I värme försiggår denna förändring hastigt. För att afgöra, om detta i någon nämnvärd grad varit händelsen vid mina undersökningar, hvilka utförts vid rätt hög rumtemperatur, var den lösning, som användes i försök N:r 6 afkyld till 0° innan den likaledes afkylda rhodankaliumlösningen tillsattes, och absorptionscellen var likaledes afkyld; själfva undersökningen utfördes så hastigt, det var mig möjligt; de funna talen visa ej någon betydligare differens från medeltalet.

Alla undersökningarne hafva företagits snarast möjligt, sedan rhodankaliumlösningen blifvit tillsatt. För att se, hvad det har för inflytande, om man dröjer med undersökningen, lät jag en del af lösningen N:r 5 stå 9 timmar vid omkr. 22° C. och bestämde derefter extinktionskoefficienten $\varepsilon_{''}$, hvilken hade sjunkit från 0,778 till 0,605, således med 22 %. Vid samma försök med lösningen N:r 3 sjönk $\varepsilon_{''}$ från 1,556 till 1,226, således med 21 %. Den spektrofotometriska undersökningen bör således företagas så fort som möjligt, sedan man tillsatt rhodankaliumlösningen.

Mängden saltsyra, som finnes i lösningen, är af ännu större betydelse. Vid frånvaro af fri mineralsyra framkommer färgen ej als. Vid brist på fri syra blifver färgen svagare än vid närvaro af mer syra. En lösning (konc. = 0,000005 gm Fe på 1 kcm.), som höll endast 0,25 % HCl, gaf för de resp. absorptionsförhållandena följande tal: $A_{'} = 0{,}0000352$; $A_{''} = 0{,}0000166$; $A_{'''} = 0{,}0000097$; således absorberade den samma ljuset svagare än en lösning med 0,5 % HCl. Största betydelsen har det, om mängden rhodankalium ej räcker till för att omsätta sig med saltsyran. En järnkloridlösning med 1 % HCl, som höll endast $^1/_4$ af den mängd rhodankalium, som svarade mot mängden fri HCl (konc. = 0,00004 Fe på 1 kcm.) gaf $A_{'} = 0{,}000054$, $A_{''} = 0{,}000025$. En lösning med 1 % HCl men endast $^1/_{10}$ af den erforderliga mängden rhodankalium gaf $A_{'} = 0{,}000072$, $A_{''} = 0{,}000034$, $A_{'''} = 0{,}000017$. En lösning med 5 % HCl med endast $^1/_{50}$ af den mängd rhodan-

kalium, som svarade mot saltsyran (konc. = 0,00001 gm Fe på 1 kem.) gaf $A_{,} = 0{,}000092$, $A_{,,} = 0{,}000047$, $A_{,,,} = 0{,}000023$ och hade således ej fullt $^1/_3$ af den färgstyrka, som järnrhodaniden visade i de ofvan anförda försöken. Det är således af stor vigt att använda en afmätt mängd saltsyra och tillsätta så mycket rhodankalium, att all den fria saltsyran kan binda sig vid kalium. En halt af 0,4—0,5 % HCl i den för undersökningen använda lösningen har visat sig vara tillräckligt stor. Vid metodens användning har jag, för att undvika bildning af basisk järnklorid, vanligen brukat lösa profvet (i mina försök återstoden, sedan en järnkloridlösning blifvit afdunstad på vattenbad) i en så stor mängd saltsyra (25 %), att lösningen kommit att hålla 0,4—0,5 % HCl, sedan den genom tillsats af vatten och 20-procentig rhodankaliumlösning erhållit den önskade volumen. Då jag naturligtvis stundom sväfvat i ovisshet om, hvilken volum jag borde gifva lösningen för att få den af lämplig koncentration för den spektrofotometriska undersökningen, har jag i så fall afmätt en del af den med vatten utspädda lösningen och försatt den med motsvarande mängd rhodankaliumlösning, så att, om denna lösning visat sig vara för stark eller för svag för att kunna undersökas spektrofotometriskt, jag kunde bringa den öfriga delen af lösningen till lämplig koncentration.

Om man iakttager dessa kauteler, att arbeta med lösningar af känd halt af HCl (omkring 0,5 %), att tillsätta ett öfverskott af rhodankalium, att undersöka lösningen genast efter tillsats af rhodankalium (och filtrering), samt undviker bildning af basiskt järnsalt, så lemnar metoden goda resultat och uppfyller den fordran jag stält derpå, nämligen att möjliggöra bestämning äfven af minimala mängder järn. Jag har med denna metod kunnat bestämma järnmängden utan någon svårighet, äfven då hela mängden järn, jag haft att arbeta med, ej varit mer än 0,1 mgm, ja ännu mindre.

Såsom ett prof på metodens användbarhet vill jag anföra följande försök. En järnkloridlösning af bestämd styrka späddes till två prof, hvars järnhalt jag icke kände. De tal, jag fann vid spektrofotometrisk bestämning af järnet, stälde sig till de verkliga talen såsom följer: den ena lösningens järnhalt var 0,0376 %, och den spektrofotometriska bestämningen gaf 0,0378 %; den andra lösningen höll 0,032 % järn, och spektrofotometriskt bestämde jag den till 0,0328 %.

Jag öfvergår nu till den detaljerade redogörelsen för de undersökningar, jag utfört med det från den omnämnda melanosarkompatienten samlade materialet, dels svulsterna, dels från urinen fällningarne för barytvatten och för neutralt blyacetat.

1. **Barytfällningen** ur urinen, var visserligen den, som jag sist tog i arbete, men då jag på grund af den erfarenhet, jag vunnit om färgämnet vid arbete med det öfriga materialet, lyckades isolera färgämnet derur på det enklaste sättet, och tillika erhöll den största mängden färgämne ur denna fällning, redogör jag först för undersökningen af detta material. Såsom jag förut nämnt samlades urinen under sex veckors tid dag efter dag och fäldes med barytvatten, så länge detta gaf någon fällning. Fällningarna togos på filtrum och uppslammades med vatten i en stor cylinder, samt tvättades genom dekantering en till två gånger om dagen. Den sålunda samlade, ljust brungula barytfällningen togs på en silduk, tvättades med vatten och utpressades. Därefter sönderdelades den med en koncentrerad sodalösning under användande af lindrig värme, då den största delen af färgen löstes och frånfiltrerades [1]). Den mörkfärgade nästan brunsvarta lösningen försattes med ett öfverskott af svafvelsyra, då det mästa af färgen gick i fällning. (Filtratet var visserligen färgadt, men då denna färg ej kunde fällas ut med blysocker, sedan lösningen blifvit gjord alkalisk, tillvaratogs det ej.) Fällningen löstes i utspädd natronlut, försattes med ättiksyra i öfverskott, då det mästa af färgen fäldes ut (α), men en del öfvergick i filtratet (β) (dels såsom uppslammad dels såsom löst); fällningen (α) löstes ånyo i NaOH och fäldes med ättiksyra i öfverskott; vid filtrering gick äfven nu en del af fällningen igenom filtrum och då filtratet till sist aflopp klart var det ljust gulfärgadt (filtratet förenades med det förra). För att aflägsna urinsyra, som möjligen skulle kunna finnas i fällningen, löstes den i natronlut (i så stor mängd att färgämnet ej därur fäldes af barytvatten) och försattes med barytvatten; efter ett dygn affiltrerades den afsatta fällningen (af kolsyrad baryt och litet färgämne, med murexidprofvet erhöls ej reak-

[1]) Den från sodalösningen befriade barytfällningen var tydligt rosafärgad. Med sprit och svafvelsyra kunde denna färg utdragas, då en gulröd lösning erhöls, som ej gaf något absorptionsband äfven i tjockt lager; efter öfvermättning med soda erhöls en brungul lösning och genom afdunstning af spriten erhöls färgämnet afskildt, tvättades med vatten, förbrändes och askan pröfvades på järn med negatift resultat.

tion) och lösningen fäldes med konc. ättiksyra i stort öfverskott, tvättades med vatten, tils detta reagerade neutralt, uppslammades i sprit och sedan i eter; torkades på vattenbad. Filtratet (β), som var grumligt af uppslammadt färgämne, försattes med barytvatten, då större delen af färgen afsatte sig som fällning; denna fällning behandlades på vattenbad med ättiksyra (50—75 %), då en del löstes; det, som ej löstes i ättiksyran, löstes i natronlut, försattes med barytvatten (för att aflägsna möjligen närvarande urinsyra), fäldes med ättiksyra, uppslammades i svag saltsyra (0,5 %), uttvättades med vatten, sprit och eter, samt torkades; förenades med preparatet ur fällningen (α). Det, som löst sig i ättiksyra (50—75 %), utfäldes genom spädning med vatten och tillsats af barytvatten (dock ej så mycket att syran neutraliserades), tvättades med vatten, sprit och eter samt torkades på vattenbad.

Jag hade således framstält två preparat, som skilde sig genom olika löslighet i stark ättiksyra. Af det ena, det i ättiksyra olösliga, eller svårlösliga ämnet, erhöls i alt 2,78 gm. Af det andra, som löstes i ättiksyra, erhöls endast 18 cgm. Den angifna skilnaden synes mig dock hafva varit mer graduel än absolut, ty då det förra preparatet fäldes ur sin lösning i alkali genom tillsats af ättiksyra i öfverskott, höll sig filtratet länge svagt gulfärgadt, delvis beroende på uppslammadt färgämne (det flockade sig nämligen ej väl vid fällning med ättiksyra), men äfven delvis beroende på upplöst färgämne.

1. *Det i ättiksyra* (50—75 %) *olösliga färgämnet*, erhållet ur barytfällningen, bildade i torr form ett brunsvart amorft pulver, som vid upphettning äfven till 120° ej visade någon tendens att smälta eller baka ihop sig. Det var olösligt i vatten, sprit, eter, finkelolja, kloroform, utspädda syror; svafvelsur sprit löste i kokning något, men föga. Af konc. svafvelsyra löstes det i köld delvis, med brun färg, och utfäldes vid tillsats af vatten. I koncentrerad ättiksyra löstes det ej als äfven vid ihärdig kokning (äfven vid kokning med tenn och isättika löstes det ej als). I alkalier löstes det särdeles lätt. I utspädd natronlut, ammoniak, sodalösning och äfven en svag lösning af dinatriumfosfat löstes det mycket lätt. Ur sin lösning i utspädd natronlut fäldes färgämnet vid tillsats af barytvatten, klorbaryum eller magnesiumsulfat; löst i starkare natronlut (1 –2 %), fäldes det betydligt trögare af barytvatten och för att erhålla en fällning behöfde man tillsätta en

rätt stor mängd af reagenset; ur lösningen i natronlut fäldes det mycket lätt och fullständigt af blyacetat. Löst i utspädd ammoniak fäldes det äfven lätt af barytvatten, magnesiumsulfat eller blyacetat. Lösningen i dinatriumfosfat gaf vid tillsats af klorbaryum all färg i fällning; lösningen i dinatriumfosfat kunde försättas med saltsyra till starkt sur reaktion och nära nog fullständigt försvinnande af den alkaliska reaktionen, utan att fällning uppstod; denna lösning reagerade fullväl så starkt surt som en starkt sur urin; tillsats af mera saltsyra gaf fällning. Af salpetersyra (25 %) angreps färgämnet lätt i värme och löstes med gul färg, som vid tillsats af ammoniak blef starkare.

Färgämnet höll en betydlig mängd aska. 0,2570 gm substans (torkad vid 110°—115°) gaf 0,0241 gm aska och således 9,38 %, Askan var ljust rödbrun; löstes endast delvis i saltsyra, hvarvid kalk, baryt och järn gingo i lösningen, fosforsyra fans ej; det olösta visade sig bestå af svafvelsyrad baryt; huruvida i askan fans någon kiselsyra undersöktes ej, men äfven om sådan funnits där, så har dess mängd varit mycket ringa.

Lösningen i alkali var mörkt rödbrun; vid utspädning blef den gulbrun och slutligen gul. För spektroskopet visade den intet absorptionsband, utan en allmän ljusabsorption, som tilltog i styrka mot den violetta änden af spektrum.

För att åskådliggöra, huru de spektrofotometriska undersökningarna utfördes, meddelas i den serie, för hvilken jag först redogör, äfven de gradtal, som jag afläst på spektrofometern och gränserna för de undersökta regionerna.

Af den vid 100°—105° torkade substansen afvägdes 0,0197 gm, motsvarande 0,0178 gm askfri substans, och löstes i 25 kem. NaOH ($N/_{10}$), hvarvid den löstes lätt och fullständigt. Den filtrerade lösningen undersöktes spektrofotometriskt. Se Tab. 3.

Serien af relativa extinktionskoefficienter återgifves grafiskt genom kurvan N:r 1 Tafl. I.

För regionen med våglängd = 562 blifver absorptionsförhållandet $\left(= \frac{\text{konc.}}{\varepsilon}\right)$ = 0,000403 för askfri substans beräknadt. Samma konstant kan naturligtvis med lätthet uträknas äfven för hvarje annan region med tillhjälp af talen i tabellen eller kurvan.

För att kontrollera undersökningen återgifver jag ännu en sådan serie af spektrofotometriska mätningar. 0,0119 gm substans (torkad vid 100°—105°), svarande mot 0,0108 gm askfri

Tab. 3.

Region.	Midten våg-längd.	Aflästa gradtal vänster.	höger.	Medel-tal gra-der.	Extinktions-koefficient = ε.		Relativ ε.
a 46 B—B 14 C	694	57,7 56,9	58,7 58,3	57,9		0,549	31,1
B 14 C—B 84 C	670	61,3 61,5	61,6 62,1	61,6		0,647	36,6
B 84 C—C 19 D	650	65,4 65,2	65,9 66,1	65.6		0,768	43,5
C 19 D—C 43 D	632	68,2 68,3	68,9 68,9	68,6		0,876	49,6
C 43 D—C 68 D	616	71,6 71,6	72,0 72,1	71,9		1,015	57,5
C 68 D—C 92 D	601	74,7 74,5	75,1 74,7	74,7		1,160	65,6
					1) ε.	ε × 2.	
C 92 D—D 12 E	587	63,0 62,6	63,6 63,5	63,2	0,692	1,384	78,3
D 12 E—D 30 E	574	65,5 65,1	66,1 66,4	65,8	0,775	1,549	87,7
D 30 E—D 47 E	562	68,2 68,0	68,8 69,3	68,6	0,883	1,767	100
D 47 E—D 65 E	551	71,0 70,9	71,4 71,3	71,2	0,981	1,963	111,1
D 65 E—D 82 E	541	73,3 73,4	73,8 73,8	73,6	1,098	2,197	124,3
D 82 E—E	532	75,2 75,3	75,7 75,6	75,5	1,200	2,400	136
					2) ε.	ε × 4.	
E—E 20 F	522	62,6 62,5	63,2 63,1	62,6	0,674	2,696	152,6
E 20 F—E 40.F	513	64,4 64,6	64,7 64,7	64,6	0,735	2,941	166,5
E 40 F—E 60 F	505	65,9 66,0	66,5 66,5	66,5	0,797	3,187	180,4
E 60 F—E 80 F	497	68,1 67,5	67,8 67,0	67,6	0,838	3,352	189,7
					3) ε.	ε × 8.	
E 80 F—F 6 G	488	53,9 53,2	53,6 54,1	53,7	0,455	3,643	206,2
F 6 G—F 24 G	476	55,4 55,1	55,7 55,4	55,4	0,492	3,932	222,5
F 24 G—F 54 G	461	59,0 58,5	58,8 58,3	58 9	0,573	4,582	259,3
F 51 G—F 84 G	445	60,0 61,1	60,7 61,0	60,7	0,621	4,966	281

1) Lösningen späddes med lika volum vatten.
2) Lösningen späddes åter med lika volum vatten.
3) Lösningen späddes åter med lika volum vatten.

substans afvägdes, löstes i 20 kcm. NaOH ($N/_{10}$), filtrerades och undersöktes. Se Tab. 4.

Tab. 4.

Våglängd.	Medeltal grader.	Extinktionskoefficient = ε.		Relativ ε.	Våglängd.	Medeltal grader.	Extinktionskoefficient = ε.		Relativ ε.
694	54,1	0,464		31,4			ε.	ε × 2.	
670	57,5	0,539		36,5					
650	61,8	0,651		44,1	532	71,7	1,006	2,012	136,2
632	64,6	0,735		49,8	522	73,6	1,098	2,197	148,7
616	67,8	0,845		57,2			[2]) ε.	ε × 6.	
601	70,8	0,966		65,4					
587	73,8	1,109		75.1	513	51,2	0,406	2,436	165,0
					505	52,7	0,435	2,610	176,7
		[1]) ε.	ε × 2.		497	54,2	0,466	2,795	193,6
					488	56,5	0,516	3,097	209,7
574	61,9	0,654	1,308	88,6	476	58,9	0,574	3,443	233,1
562	64,7	0,738	1,477	100	461	61,5	0,643	3,856	261,0
551	67,2	0,823	1,647	111,5	445	64,7	0,738	4,431	300,0
541	69,8	0,934	1,867	126,4					

Kurvan N:r 2 Tafl. I lemnar en grafisk framställning af de erhållna värdena för den relativa extinktionskoefficienten. De båda kurvorna följas troget åt och sammanfalla delvis, såsom de naturligen böra göra. Vid undersökning af de starkare brutna delarna af spektrum göra sig observationsfelen mest gällande. Den största differensen förefinnes i den starkast brutna regionen (vågl. 445). Möjligen kan denna olikhet bero på att färgämnet förändrat sig, då en tid af ett par månader förflöt mellan båda undersökningarna och färgämnet ej synes vara oföränderligt vid förvaring, men jag anser det sannolikt bero på ett observationsfel. För att den relativa extinktionskoefficienten skulle blifvit 281 såsom i första serien i stället för 300, skulle det aflästa gradtalet hafva varit 63,2 i stället för 64,7. I de mindre brytbara spektralregionerna begår man ej gärna ett sådant fel, men i denna del af spektrum anser jag det mycket möjligt att ett sådant fel kan insmyga sig, äfven om de särskilda afläsningarna ej visa några betydliga differenser; åtmin-

[1]) Lösningen späddes med lika volum vatten.
[2]) Lösningen späddes åter med lika volum vatten.

stone är det fallet med mitt öga, att jag har svårt att med säkerhet afgöra, om det verkligen är till full likhet mellan båda spektra jag inställer instrumentet, eller om jag vid en undersökning uppfattar en viss grad af olikhet såsom likhet och ställer in till denna vid de olika afläsningarna.

Absorptionsförhållandet för region = vågl. 562 blifver i detta fall = 0,000366 för askfri substans. I medeltal af båda undersökningarna blifver A (region = vågl. 562) = 0,000385.

Pigmentet absorberar således ljuset mycket starkt; i denna region mycket starkare än oxyhemoglobin, så att det behöfves 5 gånger så stark lösning af detta för att gifva samma ljusabsorption, som det ifrågavarande pigmentet åstadkommer.

Detta tal kan anses vara giltigt endast för det instrument, hvarmed det blifvit bestämdt, då såsom OTTO (2) framhållit, den spektrofotometriska konstanten (A) för samma färgämne är betydligt olika för instrument af olika konstruktion, och äfven synes kunna variera för olika instrument af samma konstruktion. För att detta tal skall kunna tillgodogöras af andra, vill jag bifoga de tal, jag funnit för absorptionsförhållandet för ett ämne, som är lätt att erhålla af vederbörlig renhet och af känd styrka, nämligen kaliumpermanganat. För kaliumpermanganat (svarande mot oxalsyra $N/_{500}$) fann jag i medeltal i region vågl. = 562 $\varepsilon_{\prime} = 0{,}504$ och i region vågl. = 541 $\varepsilon_{\prime\prime} = 0{,}827$ och således absorptionsförhållandet för kaliumpermanganat resp. $A_{\prime}$ (vågl. 562) = 0,00025 och $A_{\prime\prime}$ (vågl. = 541) = 0,000152.

Såsom jag förut nämnt, fann jag i askan en betydlig mängd baryumsulfat. Redan däraf slöt jag, att substansen höll en rätt betydlig mängd svafvel, och ännu mera sannolikt fann jag det, när BERDEZ & NENCKIS uppsats kom mig tillhanda, emedan de i ett melanosarkomfärgämne funno öfver 10 % svafvel. Vid anstäld analys befans äfven det färgämne, jag hade framstält ur barytfällningen, vara rikt på svafvel. Svafvelbestämningarne utfördes enligt HAMMARSTENS metod genom att först oxidera substansen med salpetersyra, afdunsta, tillsätta sodalösning, intorka och förbränna etc. Samtidigt bestämde jag äfven järnet. Smältan löstes i vatten och filtrerades, filtrum torkades och förbrändes, järnoxiden löstes i saltsyra + litet salpetersyra, lösningen afdunstades på vattenbad till torrhet och järnet bestämdes därefter spektrofotometriskt såsom jag ofvan har beskrifvit.

0,3614 gm substans (torkad vid 110°), svarande mot 0,3275 gm askfri substans, gaf 0,2149 gm $BaSO^4$ = 0,0295 gm S = 9,01 % S.

För järnbestämningen löstes afdunstningsåterstoden i 2 kem. HCl (25 %) späddes med 86 kem. aq.; 22 cc. af denna lösning försattes med 3 kem. KCNS (20 %). $\varepsilon_{,,}$ erhöls = 0,507, svarande mot 0,000659 % Fe; $\varepsilon_{,,,}$ = 0,821, svarande mot 0,000633 % Fe; mängden Fe beräknas däraf till 0,000646 gm Fe; således = 0,20 % Fe.

Filtratet från baryumsulfatfällningen afdunstades och pröfvades därefter på fosforsyra med negatift resultat.

Den höga svafvelhalten gjorde det nödvändigt, att vid kol- och vätebestämningen vidtaga särskilda åtgärder för att erhålla tillförlitligt resultat. Förbränningen utfördes med blykromat i bajonettrör; framför blykromatet blandadt med substansen hade jag ett lager kornig kopparoxid (för att förbränna flyktiga produkter), där framför ett 15 cm. långt lager blykromat, som höls helt svagt upphettadt (ej till glödgning) samt slutligen ett lager silfvertråd. Oaktadt förbränningen leddes långsamt och försiktigt, kan jag ej anse mig hafva fullkomligt vunnit mitt mål att kvarhålla svaflets oxidationsprodukter, ty vattnet, som samlades i klorkalcinmrörets kula, hade sur reaktion, om också ej mycket stark, och med klorbaryum gaf det en svag grumling. Mängden af mitt material tillät mig emellertid ej att göra repeterade försök. Att något betydligare fel i bestämningen ej förefinnes kan man sluta af öfverensstämmelsen mellan dessa tal och dem jag erhållit vid analys af pigmentet ur svulsterna.

Vid förbränning af 0,2558 gm substans (torkad vid 110°), svarande mot 0,2317 gm askfri substans, erhöls 0,1243 gm H^2O och 0,4739 gm CO^2, motsvarande resp. 0,0138 gm eller 5,95 % väte och 0,1292 gm eller 55,76 % kol.

Kväfvet bestämdes i gasform enligt DUMAS' metod. Gasen uppsamlades och aflästes i ZULKOWSKYS apparat öfver kalilut af den styrka, KREUSLER angifvit, och beräknades med användning af KREUSLERS tabell öfver kalilutens tension.

Af 0,3005 gm substans (110°), motsvarande 0,2723 gm askfri substans, erhöls 28,2 kem. kväfgas, afläst vid + 20° C. och 764 mm. Bst. Reduceradt till 0° och 760 mm. Bst = 26,0 kem. Kväfve således = 0,03342 gm eller 12,27 %.

Det undersökta preparatet visade således en hög svafvelhalt, likasom det färgämne, »phymatorhusin», som BERDEZ & NENCKI framstält ur melanosarkomsvulster och analyserat, men en

rätt stor differens mellan deras och mitt preparat förefinnes däri, att jag funnit färgämnet hålla en icke obetydlig mängd järn. Jag ansåg det därför af vigt att pröfva, om icke denna olikhet kunde bero på den använda framställningsmetoden. BERDEZ & NENCKI hafva behandlat färgämnet med kokande saltsyra af 10 % under 1—2 timmars tid, och det ligger nära till hands att tänka sig, att deras preparat från början varit järnhaltigt, men att järnet genom behandlingen med saltsyra blifvit aflägsnadt. Jag hade så mycket mera skäl att företaga en sådan undersökning, som det färgämne jag erhållit ur melanosarkomsvulsterna, hvilket jag digererat med utspädd saltsyra, hade en lägre järnhalt än färgämnet ur urinen, ehuru det i öfriga egenskaper visade den bästa öfverensstämmelse därmed. För att afgöra denna fråga användes det återstående materialet. Färgämnet, som hade varit förvaradt i torr form under 2 månader, löstes i soda; vid tillsats af ättiksyra äfven i öfverskott erhöls ej någon fällning; färgämnet hade således förändrat sig något under förvaringen, ty förut fäldes det lätt af ättiksyra. Ur ättiksur lösning kunde det fällas nästan fullständigt vid tillsats af ättiksyradt natron och af koksalt, äfvensom af barytvatten. Att det ej fäldes vid tillsats af ättiksyra, synes dock ej hafva berott på att det blifvit lösligt i ättiksyra, ty det utfälda färgämnet löstes ej i ättiksyra, vare sig svag eller stark. Snarare synes färgämnet hafva antagit karakteren af en så stark syra, att det ej frigjordes ur sin förening med alkali genom tillsats af ättiksyra, ty af saltsyra fäldes det lätt. På grund af den ringa mängd material, jag hade till mitt förfogande, kunde jag emellertid ej vidare undersöka detta förhållande. Färgämnet utfäldes genom att göra lösningen svagt sur af ättiksyra och fälla genom tillsats af natriumacetat; en liten del af det utfälda och tvättade färgämnet pröfvades på järn med starkt positift resultat, det öfriga digererades på vattenbad under en timmes tid med saltsyra af 10 %. (Därvid löstes en liten del af färgämnet och kunde åter fällas med NaCl. Mängden däraf var alt för liten för att tillåta någon noggrannare undersökning; till sin färg och järnhalt synes det hafva öfverensstämt med det, som ej löstes i HCl). Det som ej löstes i HCl (10 %) togs på filtrum, saltsyran borttvättades med vatten, hvarefter preparatet tvättades med sprit och eter samt torkades. Dess utseende var då ett annat än förut; det var mera luckert och till färgen ljusare, så att

det i stället för att förut hafva varit brunsvart, numera var brungult. Den erhållna kvantiteten var för liten för att tillåta en säker askbestämning; inaskning af ett prof om 4 cgm visade dock, att mängden aska ej var öfver 1 % och att den således kunde utelemnas ur räkningen, utan att därigenom något nämnvärdt fel kunde uppstå. Preparatet användes till bestämning af järn och svafvel enligt förut angifna metoder.

Ur 0,2643 gm substans (torkad vid 110°) erhöls 0,1958 gm $BaSO^4$ motsvarande 0,0269 gm eller 10,18 % svafvel, samt 0,000074 gm järn eller 0,028 %. Vid behandlingen med saltsyra af 10 % hade således järnhalten sjunkit till ungefär $^1/_{10}$ af det ursprungliga och var så liten, att den lätt skulle kunna förbises eller uppfattas såsom en förorening, om man ej kände dess ursprungliga storlek. Jag anser mig därför berättigad påstå, att det på grund af BERDEZ & NENCKIS undersökningar är oafgjordt, om det af dem iakttagna färgämnet från början varit järnhaltigt eller ej och håller för sannolikt att det varit järnhaltigt. Svafvelhalten hade ej minskats utan tvärtom ökats, så att den nära öfverensstämmer med de tal, som BERDEZ & NENCKI funnit. Man kan däraf draga den slutsatsen, att den höga svafvelhalten ej kan bero på närvaro af sulfater i askan, ty i detta fall var mängden aska ej öfver 1 % och äfven om askan helt och hållet utgjorts af baryumsulfat, motsvarar dess svafvelhalt högst 0,14 % och influerar således ej på det anangifna talet.

2. *Det i ättiksyra (50—75 %) lösliga färgämnet* erhållet ur barytfällningen. (Framställning, se ofvan). Mängden af det preparat, jag erhöll var 18 cgm. Någon fullständig undersökning däraf var således ej möjlig, hvarför jag ansåg mig hufvudsakligen böra undersöka dess egenskaper såsom färgämne genom spektrofotometri. Emellertid var det, för att kunna beräkna absorptionsförhållandet, nödvändigt att bestämma askhalten. För detta ändamål förbrändes 0,1259 gm substans (torkad vid 110°) i platinaskepp i syrgasström, såsom vid kol- och vätebestämning. Kolsyran och vattnet uppsamlades visserligen och vägdes, men, emedan dels mängden substans var väl liten för att gifva en god bestämning, och jag dessutom ej tog hänsyn till dess svafvelhalt, anser jag de erhållna värdena ej förtjäna att meddelas; så mycket torde jag dock böra nämna, att kolhalten erhöls ett par procent högre än den erhöls för det i ättiksyra olösliga färgämnet, då jag, för att bestämma dess askhalt, för-

brände det på samma sätt. Askans mängd var 0,0087 gm = 6,91 %.

I askan bestämdes järnet spektrofotometriskt såsom järnrhodanid. Askan öfvergöts med HCl (25 %), som på vattenbad afdunstades till torrhet, löstes i 5 kcm. HCl (2 %) + 12 aq och försattes med 3 kcm. rhodankaliumlösning (20 %). Vid den spektrofotometriska undersökningen erhöls $\varepsilon_{,} = 0,441$ svarande mot 0,00147 % Fe i lösningen, och $\varepsilon_{,,} = 0,817$ svarande mot 0,00106 % Fe i lösningen, således i medeltal = 0,0011 % Fe i lösningen eller 0,00022 gm Fe = 0,19 % af askfri substans.

För den spektrofotometriska undersökningen torkades substansen vid 100—105° och afvägdes 0,0404 gm = 0,0376 gm askfri substans, löstes i 50 kcm. NaOH ($N/_{10}$) och filtrerades. Resultaten af den spektrofotometriska undersökningen återfinnas i Tab. 5 och kurvan N:o 1, Tafl. II.

Tab. 5.

Våg-längd.	Medeltal grader.	Extinktions-koefficient = ε.	Relativ ε.	Våg-längd.	Medeltal grader.	Extinktions-koefficient = ε.		Relativ ε.
694	35,1	0,194	29,3	532	71,0	0,975		147,1
670	38,4	0,212	32	522	73,1	1,073		161,8
650	43,5	0,279	42,1	513	75,2	1,185		178,9
632	46,2	0,320	48,2			[1]) ε.	ε × 2,	
616	48,6	0,359	54,2					
601	52,3	0,427	64,5	505	62,3	0,665	1,331	200,9
587	55,4	0,492	74,2	497	64,5	0,732	1,464	221
574	58,9	0,574	86,6	488	66,2	0,788	1,576	237,9
562	62,2	0,662	100	476	69,5	0,911	1.823	275,2
551	65,5	0,765	115,4	461	71,5	0,997	1,994	301
541	68,4	0,868	131	445	74,3	1,135	2,271	342,8

För askfri substans beräknas däraf absorptionsförhållandet, i spektralregionen vågl = 562, till A = 0,00114.

Detta värde för absorptionsförhållandet är högre, än jag funnit vid undersökning af motsvarande preparat ur svulsterna från samma patient, hvarför jag antager, att preparatet ej var rent, utan (oafsedt askan) varit något förorenadt af andra ofärgade eller svagare färgade ämnen.

[1]) Lösningen späddes med lika volum vatten.

Jämför man kurvan 1, Tafl. II med kurvorna 1 & 2 Tafl. I, hvilka tillhöra det i ättiksyra olösliga färgämnet ur barytfällningen, så finner man, att de förete en rätt stor olikhet i form. Kurvan 1, Tafl. II har nämligen ett mer brant förlopp, d. v. s. ljusabsorptionen tilltager hastigare, då man närmar sig den violetta delen af spektrum. Skilnaden är tillräckligt stor, för att man skall kunna påstå, att de båda färgämnena icke äro identiska, äfven om de, såsom jag antager, torde vara nära slägt med hvarandra.

2. **Fällningen för blyacetat.** Som bekant utfälles äfven ur normal urin större delen af dess färgämnen vid tillsats af blyacetat. Fällningen var därför rik på färg, men så mycket vanskligare var det att försöka därur isolera ett specifikt melanosarkomfärgämne, äfven om ett sådant fans däri. Med den ofullständiga kännedom, man har om de normala urinfärgämnena och deras sönderdelningsprodukter, var det omöjligt, att på grund af den använda framställningsmetoden säga, om ett färgämne, erhållet ur denna fällning, innehöll färgämnen, som äfven finnas i normal urin (resp. sönderdelningsprodukter af sådana) eller ej. Undersökningen af denna fällning är därför för den här afhandlade frågan om identitet mellan färgämnen ur svulsterna och ur urinen, endast så tillvida af intresse, som de framstälda preparaten visa öfverensstämmelse med färgämnena ur svulsterna (eller ur barytfällningen). Närvaro af urinens normala färgämnen (eller deras sönderdelningsprodukter) gjorde framställningen af preparaten mycket besvärlig och orsakade sannolikt äfven mycken förlust, så att utbytet af färgämne blef rätt obetydligt. De färgämnen jag erhöll synas genom närvaro af andra färgämnen (eller urinbeståndsdelar) hafva påverkats i sitt förhållande till lösningsmedel; så voro de till sist erhållna preparaten så godt som olösliga i svafvelsur sprit, ehuru de blandningar, hvarur de erhållits, löstes rätt bra däri. Då jag på grund däraf ej erhöll hela massan af hvarje preparat på en gång utan i små portioner vid förnyad bearbetning af materialet, är det mig omöjligt att göra en i detalj gående redogörelse för framställningen ens något så när öfversigtlig, hvarför jag nöjer mig med att redogöra för hufvuddragen deraf, och anser mig utan skada kunna göra denna begränsning, då jag såsom förut sagdt fäster endast underordnad betydelse vid undersökningen af dessa preparat.

Sedan urinen blifvit fäld med barytvatten, fäldes filtratet med blysockerlösning, fällningen samlades dag efter dag under sex veckors tid, tvättades med vatten genom flitig dekantering samt samlades slutligen och utpressades. Fällningen sönderdelades med sodalösning, filtratet surgjordes med saltsyra och mättades med magnesiumsulfat, då det mästa af färgen fäldes ut. Denna fällning togs på filtrum, tvättades med vatten, behandlades i värme med sprit, försatt med 2 vol. % konc. svafvelsyra, tils ej mera löstes. I spritlösningen öfvergick större delen af färgen. Det, som ej löstes i den sura spriten, löstes i natronlut och fäldes genom tillsats af magnesiumsulfat (ej mer än att reaktionen ännu var mycket starkt alkalisk), då det mästa af färgen föll ut; denna fällning behandlades i köld med utspädd saltsyra, då det mästa af färgen förblef olöst; denna återstod löstes i ättiksyra (75 %) nästan fullständigt, lösningen fäldes genom utspädning med vatten, fällningen tvättades; löstes sedan ånyo i natronlut, fäldes med ättiksyra, löstes i stark ättiksyra, lösningen utspäddes med vatten. För att underlätta afskiljandet af färgämnet tillsattes barytvatten, men ej på långt när så mycket, som behöfdes för att mätta ättiksyran; (färgämnets barytförening synes nämligen vara mindre löslig i utspädd ättiksyra än hvad själfva färgämnet är); fällningen tvättades med vatten, sprit och sedan med eter samt torkades; erhöls 16 cgm (c). Lösningen i svafvelsur sprit späddes med vatten, gjordes alkalisk med natronlut, fäldes med magnesiumsulfat, och denna fällning behandlades hufvudsakligen på samma sätt, som jag nyss beskrifvit, men härvid gäller, hvad jag förut nämnt, att jag erhöll färgämnet endast i små portioner och att preparationsmetoden (äfven fällning med blysocker) måste repeteras, innan jag erhöll preparat, som till de angifna lösnings- och fällningsmedlen visade ett bestämdt förhållande och sålunda kunde anses möjligen utgöras af en enda substans. De till sist erhållna preparaten voro föga lösliga i svafvelsur sprit. Jag erhöll ett preparat (b) lösligt i stark ättiksyra af 50—75 % = 58 cgm (i isättika löstes det mindre lätt), och ett preparat (a) olösligt i ättiksyra af 50—75 % = 50 cgm.

1. *Preparat (a) olösligt i ättiksyra (50—75 %).* Det bildade ett brunsvart pulver till utseendet likt motsvarande preparat ur barytfällningen. Det var olösligt i vatten, sprit, eter; svafvelsyrehaltig sprit löste något litet. I natronlut löstes det mycket lätt; lösningen var brunröd, visade ej något absorptions-

band i spektrum, ej heller efter tillsats af ammoniak och klorzink, samt ingen fluorescens (om litet urobilin tillblandades kunde det lätt påvisas med de nämnda reaktionerna). I salpetersyra löstes det vid kokning med ljust gulbrun färg, som vid tillsats af ammoniak blef starkare gul. Vid utförande af murexidprofvet erhöls visserligen negatift resultat, men äfven om en liten kvantitet urinsyra tillblandades blef resultatet negatift; urinsyra torde i alla fall ej hafva funnits där, då färgämnet blifvit fäldt ur lösning i natronlut med magnesiumsulfat.

För bestämning af askhalten förbrändes 0,2741 gm substans (torkad vid 110°) i platinaskepp i syrgas. Mängden aska var = 0,0204 gm = 7,42 %. Askan, som till färgen var ljusröd, användes till bestämning af järnet. För detta ändamål behandlades den med saltsyra (25 %), hvilken afdunstades till torrhet på vattenbad, utdrogs sedan med 1,5 kem. HCl (25 %) och späddes med vatten till 66 kem.; af denna lösning afmättes 22 kem. och försattes med 3 kem. rhodankaliumlösning (20 %), filtrerades och undersöktes spektrofotometriskt, hvarvid erhöls $\varepsilon_{,} = 0{,}309$ = 0,000802 % Fe, och $\varepsilon_{,,} = 0{,}641$ = 0,000834 % Fe, således medeltal = 0,000818 % järn på 75 kem. = 0,000613 gm eller = 0,242 % järn (af askfri substans).

En portion om 0,1441 gm (torkad vid 110°), svarande mot 0,1334 gm askfri substans, användes till bestämning af svafvelhalten enligt Hammarstens metod samt till bestämning af järnet och pröfning på fosfor och bly. Hvad som stannade olöst vid utdragning af soda-salpetersmältan med vatten användes till järnbestämning och pröfning på bly, behandlades med saltsyra (25 %) på vattenbad och afdunstades till torrhet, löstes med 1 kem. HCl (25 %) + 43 kem. aq; däraf afmättes 22 kem. och försattes med 3 kem. rhodankaliumlösning (20 %); erhöls $\varepsilon_{,,} = 0{,}528$ = 0,000686 % Fe och $\varepsilon_{,,,} = 0{,}899$ = 0,000692 % Fe; medeltal = 0,000689 % järn i 50 kem. lösning = 0,000344 gm järn = 0,258 % Fe (af askfri substans). Vid pröfning på bly med vätesvaflevatten erhöls helt svag brunfärgning. Ur vattenlösningen erhöls (efter upprepad afdunstning med saltsyra och därefter fällning med klorbaryum) 0,0806 gm $BaSO^4$, motsvarande 0,0111 gm svafvel = 8,3 %. Filtratet från baryumsulfatfällningen afdunstades och pröfvades med molybdenvätska på fosforsyra, hvaraf spår kunde uppvisas.

För den spektrofotometriska undersökningen torkades substansen vid 100°—105° och afvägdes 0,0184 gm, svarande mot

0,0175 gm askfri substans och löstes i 50 kcm. NaOH ($N/_{10}$). Undersökningens resultat återgifves i Tab. 6 och motsvarande kurva N:o 3, Tafl. I.

Tab. 6.

Våg-längd.	Medeltal grader.	Extinktions-koefficient = ε.		Relativ ε.
694	51,2	0,406		33,6
670	52,9	0,439		36,3
650	56,5	0,516		42,7
632	60,7	0,621		51,3
616	64,1	0,739		61,2
601	67,0	0,816		67,5
587	70,3	0,994		78,1
574	73,3	1,083		89,6
562	75,6	1,209		100
551	77,8	1,350		111,7
541	79,7	1,495		123,7
		[1]) ε.	ε × 2.	
532	68,0	0,853	1,706	141,1

Våg-längd.	Medeltal grader.	Extinktions-koefficient = ε.		Relativ ε.
		ε.	ε × 2.	
522	69,8	0,934	1,867	154,4
513	71,3	0,988	1,976	163,4
505	72,9	1,063	2,126	175,8
497	74,0	1,119	2,239	185,1
		[2]) ε.	ε × 4.	
490	60,3	0,610	2,440	197,2
482	62,7	0,677	2,708	224,0
		[3]) ε.	ε × 8.	
475	46,4	0,322	2,575	213,0
468,5	48,5	0,357	2,860	236,6
455	49,2	0,370	2,957	244,7

Efter den sista utspädningen blef ε, beräknad för den ursprungliga lösningen lägre än förut, och den motsvarande kurvan har vid region = vågl. 475 ett knä nedåt. Detta beror ej på något absorptionsband i närmast föregående region, ty något sådant fins ej, utan på fel i bestämningen. Dels är undersökningen i denna del af spektrum svår att utföra, dels multipliceras det fel, som kan hafva uppstått, med 8 och gör sig därför mer gällande. Sannolikt skulle kurvan äfven i denna del af spektrum förlöpa med samma hufvudriktning som förut.

Absorptionsförhållandet för region = vågl. 562 beräknas till 0,00029.

2. *Preparat* (*b*), *lösligt i ättiksyra* (*50—75 %*). Preparatet var till sitt utseende och sitt förhållande till reagens (utom ättiksyra) öfverensstämmande med det förra. Ej häller i detta pre-

[1]) Lösningen späddes med lika volum vatten.
[2]) Lösningen späddes åter med lika volum vatten.
[3]) » » » » » » »

parat kunde något urobilin påvisas med ammoniak-klorzinkreaktionen, medan urobilin, som blifvit inblandadt, med lätthet gaf sig till känna.

Vid förbränning af 0,1668 gm substans (torkad vid 110°) erhöls 0,0068 gm aska, således = 4,08 %. Askan var brunröd, användes till bestämning af järnet; behandlades med saltsyra (25 %), som afdunstades till torrhet på vattenbad ($BaSO^4$ stannade olöst), järnkloriden upptogs med 2 kcm. saltsyra (2 %), späddes med 6 kcm. vatten och försattes med 2 kcm. rhodankaliumlösning (20 %) och filtrerades. Vid den spektrofotometriska bestämningen erhöls $\varepsilon_{,}$ = 1,215 = 0,00316 % järn = 0,000316 gm Fe = 0,197 % Fe af askfri substans.

Kol och väte bestämdes genom förbränning med blykromat med föreliggande kornig kopparoxid, samt ett 20 cm lager finrifvet blykromat, som höls helt svagt upphettadt, samt derframom silfvertråd. Af substansen (torkad vid 110°) afvägdes 0,1246 gm svarande mot 0,1195 gm askfri substans. Derur erhöls 0,2545 gm kolsyra = 0,0694 gm kol eller 58,07 % af askfri substans; 0,0866 gm vatten = 0,0096 gm väte eller 8,03 % väte. Såsom synes var den använda mängden substans och den därur erhållna mängden vatten ganska liten, så att äfven en obetydlig mängd fuktighet från blykromatet och kopparoxiden kunna inverka mycket på procenthalten af väte. Visserligen använde jag all omsorg för att aflägsna denna fuktighet genom glödgning af blykromatet och kopparoxiden, uppvärmning och torkning af röret, uppvärmning af röret med innehåll efter beskickningen och evakuering med luftpump, men jag anser ändå möjligt att närvarande fuktighet gjort väteprocenten något för hög.

Kväfvet bestämdes genom förbränning med kopparoxid och uppsamling samt afläsning af kväfvevolymen i ZULKOWSKYS apparat öfver kalilut af den styrka, KREUSLER angifver. Af substansen (torkad vid 110°) användes 0,2245 gm, svarande mot 0,2153 gm askfri substans. Erhöls 20,8 kcm. kväfve vid + 23° och 767 mm Bst; reducerad till 0° och 760 mm tryck var kväfvevolymen således = 19,0 kcm.; kväfve = 0,02386 gm = 11,08 % af askfri substans.

För spektrofotometrisk undersökning torkades substansen vid 100° och uppvägdes 0,0165 gm = 0,0158 gm askfri substans, löstes i 50 kcm. NaOH ($N/_{10}$) fullständigt och filtrerades. Resultaten af undersökningen återgifvas i följande Tabell 7 och af kurvan N:o 2, Tafl. II.

Tab. 7.

Våg-längd.	Medeltal grader.	Extinktions-koefficient = ε.	Relativ ε.	Våg-längd.	Medeltal grader.	Extinktions-koefficient = ε.		Relativ ε.
694	35,2	0,175	30,9	532	67,6		0,838	148,0
670	37,1	0,216	38.2	522	69,7		0,919	162,4
650	39,9	0,230	40,7	513	71,6		1,002	176,9
632	43,2	0,275	48,5	505	73,1		1, 73	189,5
616	46,2	0,320	56,4					
601	50,4	0,391	69,1			[1]) ε.	ε × 2.	
587	53,6	0,453	80,0	497	62,6	0,674	1,348	238,0
574	55,9	0,503	88,8	490	63,5	0,701	1,402	247,6
562	58,6	0,566	100	475	66,6	0,802	1,604	283,3
551	61,4	0,640	113,0	468,5	67,7	0,842	1,683	297,2
541	64,3	0,726	128,2	455	69,0	0,891	1,783	314,9

Den oregelbundenhet, som den motsvarande kurvan (N:o 2, Tafl. II) visar i sin böjning mellan regionerna våglängd 520 och 497 förklaras genom att färgämnelösningen var för koncentrerad för att väl kunna undersökas i denna del af spektrum, således beroende på observationsfel.

Absorptionsförhållandet för region = våglängd 562 beräknas till 0,00056.

Preparat (e), äfvenledes lösligt i ättiksyra 50—75 %, användes till bestämning af svafvel och järn, enligt förut angifna metoder. Då materialet ej räckte till för att göra en särskild askbestämning, vägdes den återstod, som ej löstes vid utlakning af soda-salpetersmältan med vatten, och togs i räkningen såsom aska. Preparatet torkades vid 110°, uppvägdes 0,1520 gm, hvaraf aska 0,0105 gm = 6,9 %; askfri substans = 0,1415 gm. Vid svafvelbestämningen erhöls 0,0489 gm baryumsulfat motsvarande 0,00672 gm svafvel eller = 4,75 % af den askfria substansen. Den vägda askan öfvergöts med saltsyra (25 %), litet salpetersyra, som afdunstades på vattenbad; löstes i 0,5 kem. HCl (25%) + 21,5 kem. aq och försattes med 3 kem. rhodankaliumlösning (20 %); bestämdes ε, = 0,449 = 0,00117 % järn och

[1]) Lösningen späddes med lika volum vatten.

ε_{n} = 0,924 = 0,00120 % järn eller i medeltal 0,00118 % Fe i 25 kem. lösning; således Fe = 0,000295 gm = 0,208 % af askfri substans.

På fosforsyra pröfvades med negatift resultat i filtratet från baryumsulfatfällningen.

3. **Färgämne ur svulsterna.** Vid förarbetning af svulsterna hade jag naturligtvis framför annat att tänka på att aflägsna hemoglobinet och ägghvitan. Då melanosarkompigmentet i cellerna förekom såsom korn, ansåg jag det fördelaktigast att försöka på mekanisk väg skilja pigmentet från hemoglobinet, som sannolikt ej var söderdeladt genom förruttnelseprocesserna. Jag ville nämligen ej använda mera ingripande reagens, såsom alkalilut eller syror, för att ej sönderdela hemoglobinet, emedan hematinet sannolikt skulle vara svårare att aflägsna. Svulstmassan sönderskars därför så fint som möjligt, inknöts i en linneduk, och genom omväxlande knådning med vatten och bultning aflägsnades färgämnet från de fastare väfnadsdelarne. Jag erhöll sålunda en vätska af omkring 10 liter, som innehöll de lösliga ämnena, samt melanosarkompigmentet, fett m. m. uppslammadt. Att afskilja det uppslammade genom filtrering var omöjligt, ty till börja med gick det igenom filtrum och sedermera afstannade filtrationen snart. Genom att utfälla kalciumfosfat i vätskan lyckades jag ej häller att göra den filtrerbar, hvarför jag tillsatte alun, natriumfosfat samt soda till svagt alkalisk reaktion, då jag erhöll en fällning som afsatte sig väl, medan den ofvanstående vätskan blef klar och lätt kunde affiltreras. Filtratet var rödbrunt, men ej särdeles starkt färgadt, visade för spektroskopet klara oxyhemoglobinband; att döma efter absorptionsbandens styrka och lösningens färgstyrka var den färgad hufvudsakligen af oxyhemoglobin jämte mindre mängder af annat färgämne. Filtratet bortslogs. Fällningen spolades från filtrum, uppslammades i vatten, fick afsätta sig, samt togs å nyo på filtrum och tvättades. Fällningen uppslammades i vatten, och saltsyra tillsattes till starkt sur reaktion, då en del af färgen gick i lösning (b), men det mästa förblef olöst (a).

Lösningen (b) gaf ej något absorptionsband i spektrum. Den försattes med svafvelsyra och mättades med magnesiumsulfat, då det mästa af färgen föll ut, togs på filtrum, tvättades med vatten och löstes i natronlut. (Med denna lösning förenades lösningarne af det, som gick i lösning vid behandling af

(a) med utspädd saltsyra eller ättiksyra). Lösningen fäldes med ättiksyra i öfverskott, fällningen togs på filtrum, tvättades med vatten. Vid behandling på vattenbad med något utspädd isättika löstes den fullständigt; denna lösning späddes med vatten till 40 vol., men gaf då ej fällning; vid tillsats af barytvatten (ej så mycket att syran mättades) utfäldes färgämnet; fällningen togs på filtrum, tvättades, löstes i soda, fäldes med ättiksyra, löstes åter i ättiksyra (50—75 %) genom uppvärmning och utfäldes genom spädning med 10 vol. vatten, tvättades tills all sur reaktion försvunnit, uppslammades i sprit och tvättades därmed, uppslammades sedan i eter och tvättades därmed, torkades vid vattenbadsvärme. Af preparatet (b) erhöll jag 34 cgm. Undersökning af preparatet se nedan.

Det som ej löstes vid behandling med saltsyra (a) löstes i utspädd natronlut (1 %), lösningen försattes med magnesiumsulfat, då det allra mästa af färgen föll ut med magnesiumhydroxiden, fällningen tvättades, behandlades med utspädd saltsyra (då endast obetydligt af färgen löstes), tvättades med vatten, digererades på vattenbad med ättiksyra (50 %) (då en ringa mängd färg löstes), tvättades med vatten, uppslammades i sprit och tvättades därmed, uppslammades i eter och tvättades därmed, så länge etern lemnade återstod vid afdunstning och torkades därefter. För att pröfva om det ännu var ägghvitehaltigt digererades ett prof med isättika, då en obetydlig mängd färg löstes; filtratet späddes med vatten och filtrerades från de flockor af färgämne, som afsatt sig, och filtratet pröfvades efter koncentrering på vattenbad med ADAMKIEVICZ' reaktion med positift resultat. Färgämnet löstes därför åter i utspädd natronlut, fäldes med ett öfverskott af ättiksyra och digererades därmed på vattenbad, då endast spår af färgämnet löstes, men lösningen höll ägghvita; därefter uppslammades färgämnet i saltsyra (0,4 %) och fick stå därmed i köld under ett dygn, togs på filtrum, tvättades med vatten, sprit och eter samt torkades. Mängden färgämne hade vid denna rening minskats från 2¼ gm till 1,8 gm och samtidigt hade färgen blifvit mörkare brunsvart.

1. *Preparat* (*a*) *olösligt i ättiksyra* (50—75 %). Det torra preparatet bildade ett brunsvart pulver, som var olösligt i vatten, sprit, eter, så godt som olösligt i varm svafvelsyrehaltig sprit. I soda eller natronlut löstes det lätt med rödbrun färg, som vid utspädning blef brungul; något absorptionsband i spektrum gaf den ej.

För spektrofotometrisk undersökning torkades en del af substansen vid 110°—120°, således vid högre temperatur än jag eljes brukat, och vägdes = 0,0194 gm.

Den afvägda substansen löstes i 50 kem. NaOH ($N/_{10}$) filtrerades och undersöktes spektrofotometriskt. De erhållna värdena återgifvas i Tab. 8 och genom kurvan N:o 4, Tafl. I.

Tab. 8.

Våglängd.	Medeltal grader.	Extinktionskoefficient ε.	Relativ ε.	Våglängd.	Medeltal grader.	Extinktionskoefficient ε.		Relativ ε.
694	38,7	0,215	25,4			[1]) ε.	ε × 2.	
670	43,2	0,265	31,3	532	60,1	0,605	1,209	143,0
650	46,7	0,328	38,7	522	62,8	0,680	1,360	160,9
632	50,2	0,387	45,8	513	64,2	0,723	1,445	171,0
616	53,9	0,459	54,3	505	65,9	0,773	1,556	184,1
601	57,6	0,542	64,1	497	67,7	0,842	1,683	199,1
587	61,5	0,643	76,0			[2]) ε.	ε × 4.	
574	65,0	0,748	88,5	490	54,2	0,466	1,863	220,4
562	67,8	0,845	100	482	55,5	0,494	1,975	233,6
551	70,6	0,957	113,2	475	56,5	0,516	2,065	244,3
541	72,6	1,049	124,0	468,5	56,3	0,512	2,047	242,0

Absorptionsförhållandet för detta preparat kan jag ej angifva annat än approximativt, emedan det vid förnyad rening visade sig hålla en ej obetydlig mängd ofärgad substans (ägghvita), hvarför den mängd färgämne, som fans i preparatet endast kan kalkyleras af det utbyte jag erhöll vid reningen. Af 1,78 gm substans, som förarbetades, erhöls 1,53 gm renadt preparat (med 2 % aska), hvarvid en ringa förlust egde rum genom att litet färgämne löstes i saltsyran; mängden däraf kan anslås till 3 egm, så att jag, utan att befara något anmärkningsvärdt fel, kan antaga att 1,75 gm af preparatet innehöll 1,5 gm färgämne. 0,0194 gm preparat svarade således mot 0,0167 gm färgämne, hvaraf absorptionsförhållandet för region = våglängd 562 beräknas till 0,000396. Jag anser mig böra utföra denna beräkning för att kunna afgöra om färgämnet under den följande reningsprocessen undergick någon förändring med afseende på sin färgstyrka.

[1]) Lösningen späddes med lika volum vatten.
[2]) Lösningen späddes åter med lika volum vatten.

Då jag ej ansåg det säkert att preparatet var fritt från ägghvita, underkastade jag det ånyo en reningsproeess, innan jag skred till dess vidare undersökning. Preparatet löstes i utspädd natronlut och fäldes med ättiksyra, togs på filtrum, uppslammades därefter i saltsyra af 0,4 % och digererades därmed på vattenbad under en dag. Endast en obetydlig del af färgämnet löstes därvid i saltsyran, så att filtratet var ljust gulfärgadt. (Filtratet gaf vid neutralisation en obetydlig brun flockig fällning, sedan den blifvit frånfiltrerad, gaf den svagt gula lösningen tydlig xantoproteinreaktion; gaf ej fällning med ammoniak, och ej heller vid tillsats af ammoniumoxalat; en del afdunstades på vattenbad och gaf då en brunfärgad återstod). Färgämnet uttvättades med vatten, behandlades med sprit och eter samt torkades. Erhöls 1,53 gm. Då den ägghvitemängd, som genom den företagna reningen aflägsnades, var jämförelsevis obetydlig, antogs färgämnet nu vara fritt från inblandad ägghvita, hvilket den följande undersökningen äfven konstaterade.

Substans för spektrofotometrisk undersökning torkades vid 100—110° och vägdes = 0,0178 gm, svarande mot 0,0174 gm askfri substans (se nedan), löstes i 25 kem. NaOH ($N/_{10}$) och undersöktes. Se Tab. 9 och kurva 5 Tafl. I.

Tab. 9.

Våglängd.	Medeltal grader.	Extinktionskoefficient = ε.		Relativ ε.
694	58,3	0,559		30,3
670	61,5	0,643		34,8
650	65,7	0,771		41,7
632	69,2	0,899		48,7
616	72,6	1,048		56,8
601	75,7	1,218		66,0
		[1]) ε.	ε × 2	
587	64,3	0,726	1,451	78,6
574	67,0	0,816	1,632	88,4
562	69,8	0,924	1,847	100
551	72,2	1,029	2,059	111,5
541	74,4	1,141	2,282	123,5

Våglängd.	Medeltal grader.	Extinktionskoefficient = ε.		Relativ ε.
		ε.	ε × 2.	
532	76,5	1,264	2,527	136,8
522	78,1	1,371	2,743	148,5
		[2]) ε.	ε × 4.	
513	65,0	0,750	2,999	162
505	66,8	0,809	3,237	175,3
497	68,4	0,868	3,472	188,0
488	70,0	0,930	3,720	201,4
476	72,2	1,029	4,118	228,2
467	74,3	1,135	4,541	245,9
447	76,8	1,286	5,144	278,5

[1]) Späddes med lika volum vatten.
[2]) Späddes ytterligare med lika volum vatten.

Absorptionsförhållandet i region = våglängd 562 blifver för askfri substans = 0,000377. Vid behandlingen med saltsyra hade således den spektrofotometriska konstanten ej förändrats. Jämför man de båda kurvorna 4 och 5 Pl. I, så visa de ej full kongruens, äfven om de följas åt rätt nära hvarandra. Kurvans n:r 4 afvikelse i den starkare brutna delen af spektrum betyder ej så mycket, ty af kurvans form kan man sluta till att denna afvikelse till en del beror på något fel i undersökningen. Däremot vill jag fästa mer afseende vid kurvornas divergens i den mindre brutna delen af spektrum, ty der hafva båda kurvorna en jämn krökning och afståndet mellan dem är större, än att det gärna kan förklaras bero på en ofullkomlighet i undersökningsmetoden. Jag är därför benägen att anse att färgämnet vid behandlingen med utspädd saltsyra förändrats något med afseende på sin färgnyans. Före denna operation hade kurvan ett brantare förlopp än efter den samma, men steg dock ej så högt som kurvorna för det i stark ättiksyra lösliga färgämnet.

För bestämning af askhalten och mängden järn förbrändes 0,2076 gm substans (torkad vid 110°). Erhöls 0,0042 gm aska = 2,02 %. Askan löstes delvis i saltsyra, men äfven i detta fall stannade en rest olöst; lösningen afdunstades på vattenbad till torrhet, återstoden utdrogs med 2 kcm. HCl (2 %), späddes med 6 kcm. aq. och försattes med 2 kcm. rhodankaliumlösning (20 %), filtrerades och järnet bestämdes spektrofotometriskt; därvid erhöls $\varepsilon_{,}$ = 0,497 = 0,00129 % Fe, $\varepsilon_{,,}$ = 0,999 = 0,0013 % Fe; hela mängden järn således = 0,00013 gm eller af den askfria substansen = 0,063 % järn.

I en annan del af preparatet bestämdes svaflet enligt HAMMARSTENS metod och i samma prof äfven järnet. Uppvägdes 0,2044 gm substans (torkad vid 110°), svarande mot 0,2003 gm askfri substans. Därur erhöls 0,1163 gm baryumsulfat, motsvarande 0,01597 gm svafvel eller 7,97 % af den askfria substansen. Det som ej löstes vid utdragning af soda-salpetersmältan med vatten, behandlades med saltsyra, som afdunstades på vattenbad, utdrogs med 0,5 kcm. HCl (25 %), tillsattes 20,5 cc. aq. och 4 kcm. rhodankaliumlösning (20 %); $\varepsilon_{,,}$ erhöls = 0,492 = 0,000639 % Fe och $\varepsilon_{,,,}$ = 0,876 = 0,000673 % Fe medeltal = 0,000656 % järn; järnmängden således = 0,000164 gm eller 0,081 % järn af askfri substans. Filtratet från baryumsulfatfällningen afdunstades och pröfvades på fosforsyra med negatift resultat.

Kol och väte bestämdes genom förbränning med blykromat med föreliggande kornig kopparoxid, ett 15—20 cm. långt lager finrifvet blykromat, som höls svagt upphettadt, samt slutligen silfvertråd. Det beskickade röret uppvärmdes med sand till omkring 100° och evakuerades med luftpump upprepade gånger, och fyldes mellan hvarje gång med torkad luft. Förbränningen leddes långsamt och det föreliggande blykromatet upphettades endast svagt.

1) Substans torkad vid 110° uppvägdes 0,2679 gm = 0,2625 gm askfri substans. Därur erhöls 0,5324 gm kolsyra = 0,145 gm kol eller 55,32 %; samt 0,1334 gm vatten = 0,0148 gm väte eller 5,65 % (af askfri substans). Det i klorkalciumrörets kula kondenserade vattnet reagerade surt; gaf med $BaCl^2$ inom kort en svag grumling, som vid tillsats af ammoniak icke ökades.

2) Substans torkad vid 110° uppvägdes 0,1991 gm = 0,195 gm askfri substans. Därur erhöls 0,4016 gm kolsyra = 0,1095 gm kol eller 56,13 %; samt 0,1112 gm vatten = 0,01235 väte eller 6,33 % af askfri substans. Det i klorkalciumrörets kula kondenserade vattnet hade ej als någon sur reaktion.

Medeltal af 1) och 2) = 55,72 % kol och 6,00 % väte.

Kväfvehalten bestämdes genom förbränning med kopparoxid enligt DUMAS. Kväfgasen uppsamlades och aflästes i ZULKOWSKYS apparat öfver KREUSLERS kalilut. Af 0,3619 gm substans (torkad vid 110°), motsvarande 0,3546 gm askfri substans, erhöls 38,05 kcm. kväfgas vid 23° C. och 764 mm. Bst. Reducerad till 0° och 760 mm. tension blir dess volym = 34,7 kcm. Kväfve således = 0,0436 gm eller 12,30 % af askfri substans.

BERDEZ & NENCKI hafva i det af dem undersökta färgämnet funnit en lägre kväfvehalt än den nämnda. Det syntes mig därför vara af intresse att undersöka, om detta kan bero på olikheter i framställningsmetoderna och särskildt ansåg jag mig böra pröfva, om kokning med saltsyra 10 %, som de användt kan utöfva något inflytande. En portion af det torra färgämnet digererades 10 timmar på vattenbad med saltsyra af 10 %. Det pulverformiga färgämnet svälde icke upp, förändrades ej i sitt utseende, och syran färgades föga. Därefter tvättades färgämnet tils tvättvattnet ej vidare reagerade surt, tvättades så med alkohol och med eter samt torkades vid 110° och vägdes. Substans = 0,0776 gm. Till någon askbestämning räckte

ej substansen; förmodligen var askhalten mindre än före kokningen; om den antages hafva varit oförändrad blir mängden askfri substans = 0,0761 gm. Erhöls 7,8 kem. kväfgas vid 20° och 778,2 mm. Bst. Reducerad till 0° och 760 mm. blifver volymen = 7,3 kem. Kväfve således = 0,00918 gm eller 12,06 %. Kväfvehalten befans således vara något lägre än före behandlingen med saltsyra och detta kan ej gärna bero på fel i analysen, ty om ett fel i bestämningen förefinnes, borde det snarare öka procenttalet för kväfve, då den använda metoden gärna ger för höga värden, och denna felkälla naturligtvis är af så mycket större inflytande ju mindre mängden af den använda substansen är. Jag anser mig därför berättigad påstå att vid behandlingen med saltsyra hade preparatets kväfvehalt minskats i märkbar grad.

Preparat (b) lösligt i ättiksyra (50—75 %). För bestämning af askhalten och af järnet förbrändes 0,2126 gm substans, torkad vid 110°; erhöls 0,0055 gm aska = 2,59 %. Vid behandling med saltsyra (25 %) förblef ett hvitt pulver olöst (baryumsulfat), afdunstades till torrhet på vattenbad, utdrogs med 4 kem. HCl (2 %) och späddes med 12 kem. aq. samt försattes med 4 kem. rhodankaliumlösning (20 %) samt filtrerades. Vid den spektrofotometriska undersökningen erhöls $\varepsilon_{,} = 0{,}845 = 0{,}0022$ % järn; $\varepsilon_{,,} = 1{,}746 = 0{,}00227$ % järn; medeltal således = 0,00223 % järn i 20 kem.; mängden järn således = 0,000446 gm eller af 0,2071 gm askfri substans = 0,215 % Fe.

För bestämning af svafvelhalten återstod mig endast en ringa mängd af preparatet. Torkad vid 110° utgjorde denna del 0,0341 gm svarande mot 0,0332 gm askfri substans. Svafvelbestämningen utfördes enligt HAMMARSTENS metod. Erhöls 0,0143 gm baryumsulfat, svarande mot 0,00196 gm svafvel eller 5,9 % af askfri substans. För att bestämma järnhalten förfors såsom vanligt: återstoden, sedan soda-salpetersmältan blifvit löst i vatten, löstes i saltsyra och afdunstades till torrhet på vattenbad; afdunstningsåterstoden löstes i 2 kem. HCl (2 %), späddes med 5 kem. aq. och försattes med 1 kem. rhodankaliumlösning (20 %); hela volymen således 8 kem. $\varepsilon_{,} = 0{,}339 = 0{,}000881$ % Fe, $\varepsilon_{,,} = 0{,}66 = 0{,}000878$ % Fe eller i medeltal = 0,00088 %; mängden järn således = 0,0000704 gm eller 0,212 % af askfri substans.

För spektrofotometrisk undersökning af färgämnet gjordes två försöksserier.

1) Af substansen, torkad vid 100—105°, uppvägdes 0,0177 gm, motsvarande 0,0172 gm askfri substans och löstes i 50 kcm. NaOH $(N/_{10})$ samt filtrerades. De funna talen återfinnes i Tab. 10 och återgifvas af kurvan n:r 3 Tafl. II.

Tab. 10.

Våglängd.	Medeltal grader.	Extinktionskoefficient = ε.	Relativ ε.	Våglängd.	Medeltal grader.	Extinktionskoefficient = ε.		Relativ ε.
694	27,3	0,103	27,1	532	57,4	0,537		141,9
670	31,1	0,135	35,6	522	59,5	0,589		155,7
650	34,9	0,172	45,5	513	61,4	0,640		169,1
632	36,7	0,192	51,9	505	62,9	0,689		180,5
616	39,4	0,224	59,2	497	64,2	0,723		190,9
601	41,3	0,248	65,6			[1] ε.	ε × 2.	
587	44,1	0,288	76,0	490	51,4	0,410	0,820	216,5
574	47,1	0,334	88,3	482	52,6	0,433	0,866	228,9
562	49,7	0,378	100	468,5	55,4	0,492	0,983	259,7
551	52,2	0,425	112,3	455	58,5	0,564	1,128	298,0
541	55,2	0,487	128,7					

Absorptionsförhållandet för region = våglängd 562, beräknas till 0,000903.

2) Uppvägdes 0,0331 gm substans, torkad vid 100—105°; motsvarande askfri substans = 0,0322 gm. Löstes i 25 kcm. NaOH $(N/_{10})$, filtrerades och undersöktes spektrofotometriskt. Resultaten återgifvas i Tab. 11 och genom kurvan n:r 4 Tafl. II.

---

[1]) Späddes med lika volum vatten.

Tab. 11.

Våglängd.	Medeltal grader.	Extinktionskoefficient = ε.	Relativ ε.
694	49,4	0,373	28,1
670	52,1	0,433	32,6
650	56,2	0,509	38,3
632	60,9	0,626	47,1
616	64,6	0,735	55,3
601	68,5	0,872	65,6
587	72,0	1,020	76,7
574	74,6	1,152	86,7
562	77,5	1,329	100
551	79,7	1,495	112,5
541	81,7	1,681	126,5

Våglängd.	Medeltal grader.	Extinktionskoefficient = ε.		Relativ ε.
		[1]) ε.	ε × 2.	
532	70,0	0,932	1,864	140,3
522	71,5	0,997	1,994	150,0
513	74,1	1,125	2,250	169,2
505	75,6	1,209	2,417	181,9
495	77,1	1,302	2,605	196,0
		[2]) ε.	ε × 4.	
484	66,4	0,795	3,180	239,4
473	68,3	0.864	3,457	260,1
460	70,2	0,940	3,761	283,0

Absorptionsförhållandet för region = våglängd 562 beräknas för askfri substans till 0,000968.

I medeltal af 1) och 2) blifver denna konstant = 0,000935.

För att gifva en öfversigt af de vunna resultaten, vill jag göra en sammanställning af dem.

En öfversigt af de resultat jag vunnit vid analysering af pigmentens färg erhålles bäst af de kurvor, som återgifva de funna relativa extinktionskoefficienterna, hvilka kurvor återfinnas å Tafl. I och II. Tafl. I motsvarar de i ättiksyra (50—75 %) olösliga preparaten och Tafl. II kurvorna N:o 1—N:o 4 de i ättiksyran lösliga preparaten. De kurvor, som motsvara samma preparat äro uppdragna med samma slags linier och referera sig till samma abskissa, men för olika preparat äro de uppdragna med olika slags linier och, för bättre öfversigts skull, öfver en olika högt belägen abskissa, såsom de bredvidstående ordinatvärdena förtydliga.

Kurvorna i Pl. I följas åt med så god parallelitet, att man kan säga, att de motsvarande pigmenten hafva haft samma eller i det närmaste samma färg. Samma är förhållandet mellan

1) Späddes med lika volum vatten.
2) Späddes ytterligare med lika volum vatten.

kurvorna å Tafl. II. Däremot eger en bestämd olikhet rum mellan kurvorna å Tafl. I och å Tafl. II, i det att de senare hafva ett mera brant förlopp, d. v. s. dessa färgämnepreparat absorbera jämförelsevis mer af de starkare brutna ljusstrålarna. Skilnaden är så stor, och framför alt så genomgående, att jag anser det otvifvelaktigt, att de i ättiksyra lösliga och de deri olösliga preparaten haft en något olika färg och således ej kunna innehålla samma färgämne, medan å andra sidan de i ättiksyra olösliga preparaten, erhållna ur olika material (barytfällningen och blyacetatfällningen ur urinen samt ur svulsterna) hafva i hufvudsak samma färg och sålunda *kunna* innehålla identiska pigment; samma är äfven fallet med de i ättiksyra lösliga preparaten ur olika material.

Då en del af de undersökta preparaten hafva erhållits ur urinen, var det af intresse att spektrofotometriskt undersöka färgen i normal urin, för att se om de undersökta preparaten kunna hafva någon gemenskap med denna, samt äfven för att pröfva metodens användbarhet för att skilja färgämnen från hvarandra. Då normal urin är allt för svagt färgad för att i 1 cm. lager tillåta en fullständig spektrofotometrisk undersökning, koncentrerades normal urin vid omkring 40° till $^{1}/_{10}$ af sin volym (hvarvid jag inlade några bitar kamfer för att motverka dess sönderdelning). Den sålunda koncentrerade urinen hade sur reaktion. Färgen var rödbrun; den hade kanske något starkare dragning åt rödt än lösningarna af melanosarkomfärgämnet. Urinfärgämnet synes ej hafva förändrats mycket om ens något, ty vid utspädning återtog urinen sin gula färg och, så vidt det med blotta ögat kan afgöras, var den oförändrad till färgstyrka och färgton. Den koncentrerade urinen undersöktes spektrofotometriskt. De erhållna relativa extinktionskoefficienterna återgifvas af kurvan N:o V, Tafl. II. Som synes har denna kurva ett helt annat förlopp än de öfriga; någon identitet mellan preparaten ur melanosarkomurinen och det normala urinfärgämnet kan man således ej tänka på; vidare synes att färgämnelösningar, som för blotta ögat se snarlika ut, kunna te sig helt olika vid spektrofotometrisk undersökning.

Det mål, jag närmast stält för mina undersökningar, var att afgöra, om färgämnet (eller färgämnena) i melanosarkomsvulsterna äfven förekom i urin från patienten. Den spektrofotometriska undersökningen visar, att de färgämne-preparat jag erhållit ur urinen, såväl de i ättiksyra olösliga, hvilka utgjorde

hufvudmassan, som äfven de i ättiksyra lösliga, hade samma färg som de motsvarande preparaten ur svulsterna, och att de således *kunna* vara identiska. För att afgöra, om de verkligen äro fullt identiska, fordras flere hållpunkter. Preparatens löslighetsförhållanden, så tillvida de blifvit undersökta, tala för en sådan identitet. Vigtigare data erhålles af de kvantitativa bestämningarna, hvarför jag gifver en sammanställning af deras resultat, med angifvande af medelvärden, der två bestämningar gjorts.

Tab. 12.

Preparat olösliga i $\overline{A}$.	C %	H %	N %	S %	Fe %	Absorptions-förhållande. Region = Våg-längd 562.
1) Ur svulsterna	55,72	6,00	12,30	7,97	0,072	0,000377
b) Dito efter kokning m. HCl (10 %)	—	—	12,06	—	—	—
2) Ur barytfällningen	55,76	5,95	12,27	9,01	0,20	0,000385
b) Dito efter kokning m. HCl (10 %)	—	—	—	10,18	0,028	—
3) Ur blyfällningen	—	—	—	8,30	0,20	0,00029
Preparat lösliga i $\overline{A}$.						
4) Ur svulsterna	—	—	—	5,09	0,21	0,000938
5) Ur barytfällningen	—	—	—	—	0,19	0,00114
6) Ur blyfällningen	58,07	8,03 (?)	11,08	4,75	0,20	0,00056

Att besvara den fråga jag uppstält för mig, torde ej vara svårt. Att preparat (1) och (2) Tab. 12, hvilka utgjorde hufvudmassan af de erhållna preparaten, äro samma färgämne torde ej vara tvifvel underkastadt. De hafva samma färg, såsom kurvorna ange, samma färgstyrka (absorptionsförhållande), samma halt af kol, väte och kväfve. De enda olikheter, som finnas, äro med afseende på svafvel- och järnhalt. Hvad olikheten i järnhalt beträffar, så torde den lätt kunna förklaras genom den något olika preparationsmetoden, då det järnrikare färgämnet (2) med lätthet afgaf större delen af sin järnhalt vid behandling med saltsyra, liksom å andra sidan det järnfattigare färgämnet vid framställningen blifvit behandladt med saltsyra, om också ej af samma styrka. Då de båda preparaten i öfrigt visa så god öfverensstämmelse, kan man icke på grund af den, i och för

sig ej särdeles betydliga, olikheten i svafvelhalt säga, att de äro med hvarandra olika substanser, äfven om frågan om orsaken till denna olikhet måste lemnas öppen, och man kan på sin höjd säga att de äro något olika modifikationer af samma substans. Af deras öfverensstämmelse anser jag mig vidare kunna draga den slutsatsen att de båda äro rena preparat af färgämnet, och att de analytiska data motsvara dem, som tillkomma det rena färgämnet. Framstälda som de äro ur så olikartade blandningar som resp. svulsterna och urinen, skulle de ej kunna visa denna öfverensstämmelse, om de ej båda vore fria från främmande ämnen (oafsedt askan).

Äfven preparatet (3) Tab. 12 ur blyfällningen antager jag väsentligen hafva bestått af samma substans, hvartill jag sluter af den spektrofotometriska kurvans likhet med de förra samt af öfverensstämmelsen i svafvel- och järnhalt. Den något lägre spektrofotometriska konstanten gör dock, att jag misstänker det hafva varit förorenadt af något annat färgämne med större färgstyrka (möjligen något af de färgämnen som erhållas ur urin såsom sönderdelningsprodukter).

Anmärkningsvärd för det ifrågavarande färgämnet är den höga svafvelhalten, och det skulle vara af mycket stort intresse att utreda, i hvad form svaflet finnes där. Till följd af den ringa mängd material, som stått till mitt förfogande, har jag endast kunnat utföra några obetydliga försök i den riktningen.

På grund af den rätt betydliga järnhalten hos färgämnet är jag benägen att uppfatta det såsom ett derivat af hemoglobinet, men hemoglobinets svafvelhalt är betydligt lägre, nämligen 0,63 % (såvida ej patientens hemoglobin haft en abnormt hög svafvelhalt) och färgämnets härledning från hemoglobinet torde därför vara ganska komplicerad, äfven om samband finnes dem emellan. På grund af det hypotetiska sambandet med hemoglobin anser jag det sannolikt att svaflet ej finnes i färgämnet i form af oxideradt svafvel såsom en SO eller SO^2 grupp, ty då borde kolhalten vara betydligt mycket lägre, och jag antager, att det finnes i någon annan form. Emellertid synes svaflet ej finnas der i samma form som det icke oxiderade svaflet i ägghvita, ty vid uppvärmning äfven med stark kalilut på vattenbad har jag ej kunnat finna, att något svafvelalkali bildas; då lösningen surgjordes med saltsyra erhöls ingen utveckling af svafvelväte och vid tillsats af blyacetat till filtratet från det utfälda färgämnet erhöls endast en hvit fällning af klorbly. Vid smältning

med kalihydrat fann jag, att det bildades något svafvelalkali såsom BERDEZ & NENCKI funnit vid undersökning af sitt färgämne, men till mängden syntes mig detta svafvelalkali ej kunna motsvara alt det svafvel som fans i preparatet och jag antager därför att det äfven bildats någon annan svafvelhaltig substans. BERDEZ & NENCKI hafva vid denna behandling af sitt phymatorhusin funnit, att det bildas en flyktig svafvelhaltig organisk syra. Jag tänkte på möjligheten, att färgämnet innehöll rhodan och försökte äfven att pröfva den experimentelt. För detta ändamål upphettades vattenfritt natriumacetat till något öfver sin smältpunkt och af det finpulveriserade färgämnet infördes så mycket som möjligt, tils massan förlorade sin flytande konsistens, hvarvid stark kolning egde rum. Smältan utdrogs derefter med vatten, lösningen försattes med en tillräcklig mängd saltsyra och pröfvades med järnklorid på rhodan. Detta prof upprepade jag ett par gånger med negatift resultat och då jag genom kontrollprof med rhodankalium och med senapsolja öfvertygat mig att profvet, äfven om det ej är känsligt, dock är användbart för att påvisa rhodan, antager jag, att svaflet ej, eller åtminstone ej till större delen, förefans i färgämnet i form af en rhodanmolekyl.

De i ättiksyra olösliga preparaten erhöllos i mindre mängd. Redan därför är äfven undersökningen af dem mindre intressefull, och då jag, på grund af de små mängder, jag erhöll deraf, ej kunnat genomföra undersökningen fullständigt och således ej kan lemna samma säkerhet för deras renhet som beträffande de i ättiksyra olösliga preparaten, blifver intresset, som är förknippadt med dem, så mycket mindre. Äfven härvidlag blifver den första frågan, huruvida jag funnit samma färgämne i urinen och i svulsterna. För två af preparaten tror jag mig kunna säga, att så varit fallet, nämligen för de preparat jag erhållit ur svulsterna (4) Tab. 12 och ur barytfällningen (5) Tab. 12. De spektrofotometriska kurvorna (1, 3, 4 Tafl. II.) visa god öfverensstämmelse; de hade således samma färgton, och skilnaden i den spektrofotometriska konstanten är ej större, än att den rätt väl kan förklaras såsom beroende på en ringa förorening af preparatet (5) med ofärgad substans, hvarför äfven den obetydliga olikheten i järnhalten talar.

I hvilket förhållande står detta färgämne till det i ättiksyra olösliga? På denna fråga kan jag ej lemna ett tillfredsställande svar. Att de ej äro identiska kan man sluta till af de spektro-

fotometriska kurvorna, som visa att färgen är något olika. Att absorptionsförhållandet för det lösliga färgämnet är mer än dubbelt så högt som för det olösliga, kan ej bero på, att det lösliga färgämnet utgör en blandning af det senare med mer än sin lika vigt ofärgad substans, ty då borde järnhalten hos preparaten varit olika. Jag håller det därför sannolikt, att de i ättiksyra lösliga preparaten innehållit ett sjelfständigt färgämne, hvilket, på grund af likheten mellan de ur svulsterna och ur urinen erhållna preparaten, torde få anses hafva förelegat i något så när ren form. På grund af gemensamheten i förekomst och likheten i järnhalt torde detta färgämne få anses vara nära slägt med det, som var olösligt i ättiksyra, men hvilket samband som finnes mellan dem, om det ena bildas ur det andra och i så fall hvilketdera, eller om de möjligen uppstå hvar för sig ur en gemensam modersubstans, därom kan jag ej yttra någon åsigt.

Det tredje af dessa preparat (6) Tab. 12, som erhöls ur blyacetatfällningen, misstänker jag däremot starkt, att till en stor del hafva bestått af andra färgämnen (sönderdelningsprodukter ur urinen). Dess färg synes visserligen, såsom kurvan 2 Tafl. II visar, hafva varit densamma som hos de andra, men absorptionsförhållandet är ett helt annat, dess färgstyrka är nämligen mycket större. Man skulle kunna fråga om detta preparat ej kan bestå af en blandning af samma färgämne som de öfriga i ättiksyra lösliga preparaten med sådant, som är olösligt i ättiksyra, hvilket skulle vara öfverensstämmande med den funna järnhalten; ett sådant antagande skulle förutsätta, att de förra vore nära nog svafvelfria (hvilket bestämdt motsäges af analys (4) Tab. 12) och hade hög kolhalt (omkring 60 %). Förbränningar af dessa preparat (4) & (5) Tab. 12 i syrgas, hvilkas resultat jag ej anför, emedan jag anser dem alt för osäkra, gifva dock vid handen, att så hög kolhalt hade dessa preparat ej, snarare hade de lägre kolhalt än preparatet ur blyfällningen. Till tanken på förorening med färgämnen, som bildas såsom sönderdelningsprodukter i urin (uromelanin) ledes jag dels deraf, att blyacetatfällningen, som erhålles ur normal urin, tager med sig större delen af dess färg och är rik på kromogen substans, dels deraf, att jag ur blyfällningen, erhållen ur urin från friska och från sjuka, erhållit både järnhaltiga och starkt svafvelhaltiga färgämnen (vid en sådan bestämning fann jag 5 % S). Detta preparat (6) Tab. 12 anser jag därför vara af ringa intresse för den här afhandlade frågan och betraktar jag det mer såsom en anknytnings-

punkt för kommande undersökningar öfver de färgämnen, som kunna erhållas såsom sönderdelningsprodukter af kromogener i urinen.

Vid en återblick på de i litteraturen beskrifna fallen fästes uppmärksamheten ovilkorligen på det, som BERDEZ & NENCKI iakttagit och beskrifvit. Icke blott svulsternas uppträdande och utveckling hade en påfallande likhet i deras och mitt fall, utan äfven färgämnet i svulsterna hade mycken likhet i båda fallen, så i afseende på det yttre utseendet och löslighetsförhållandena. Svafvelhalten var i båda fallen mycket hög, ehuru i deras preparat ännu högre än i mitt. I öfrigt företer den elementära sammansättningen ej obetydliga skiljaktigheter. I mitt preparat fans en rätt betydlig mängd järn, hvilket helt och hållet saknades i deras phymatorhusin, hvilket förhållande dock, såsom jag förut visat, kan förklaras genom den framställningsmetod de användt, ty äfven om deras phymatorhusin från början varit järnhaltigt, så bör det rimligtvis hafva förlorat alt eller det allra mästa af järnet vid kokningen med saltsyra af 10 %. Den olikhet i kväfvehalt, som förefinnes, synes mig äfven den efter experiment, jag utfört, möjligen kunna förklaras på samma sätt; genom kokning med saltsyra af 10 % minskades kväfvehalten märkbart och närmade sig således den som BERDEZ & NENCKI funnit. Vid kokning med saltsyra ändrades äfven svafvelhalten i mitt preparat, så att den blef nära nog den samma som i BERDEZ & NENCKIS preparat. Olikheterna i dessa tre afseenden, nämligen med afseende på järnhalt, kväfvehalt och svafvelhalt, kunna således möjligen bero derpå att BERDEZ & NENCKI kokat sitt preparat med saltsyra, då färgämnet undergått så stora förändringar, att de förorsakat de olika resultaten af undersökningarne. Om detsamma gäller för olikheten i kol- och vätehalt, kan jag ej yttra mig, då materialet ej räckte till för att anställa något försök i den riktningen. Då emellertid likheterna mellan det af mig framstälda, i stark ättiksyra olösliga färgämnet och BERDEZ & NENCKIS phymatorhusin synas vara öfvervägande, och olikheterna synas bero på, att BERDEZ & NENCKI underkastat sitt preparat en alt för ingripande behandling, så att de ej erhållit färgämnet i oförändradt tillstånd, håller jag det för högst sannolikt, att vi haft samma färgämne

för oss, och jag anser det därför berättigadt, att jag äfven för det af mig undersökta färgämnet upptager namnet *phymatorhusin*, äfven om namnet ursprungligen blifvit användt för en sönderdelningsprodukt af färgämnet.

Andra undersökta preparat från melanotiska svulster förete väsentliga olikheter med phymatorhusinet. Det af HEINTZ undersökta preparatet var svårlösligt i alkalier, hade lägre kol- och vätehalt, samt betydligt lägre kväfvehalt och var dessutom järnfritt, allt karakterer, hvaraf jag sluter att detta färgämne varit af helt annan art än det, jag sett. Det första af de preparat DRESSLER (1) undersökt var svafvelfritt och hade betydligt lägre kolhalt, dessutom synes det hafva varit rätt svårlösligt i ammoniak. Det andra af DRESSLER (2) undersökta preparatet hade en betydligt lägre kväfvehalt.

Ej heller med något af de öfriga pigmenten, för hvilkas undersökning jag redogjort i början af denna afhandling, synes phymatorhusinet hafva någon gemenskap. Pigmentet från chorioidea är dels olösligt eller åtminstone myeket svårlösligt i alkalier; vidare är det fritt från svafvel och enligt flertalet uppgifter äfven från järn. Pigment från hår är enligt SIEBER järnfritt, dess kväfvehalt och äfven dess svafvelhalt är betydligt lägre än phymatorhusinets. Färgämnet ur melanotiska svulster hos hästar befans af DRESSLER vara fritt från svafvel, nästan fritt från järn, och var föga lösligt i kalilut. BERDEZ & NENCKI funno detta färgämne, »hippomelanin», hålla svafvel, men i betydligt mindre mängd än phymatorhusinet; vidare funno de det vara olösligt i kall kalilut och järnfritt. Med dessa färgämnen, nämligen en del färgämnen ur melanotiska svulster från menniska, färgämne ur melanotiska svulster hos hästar, chorioidalpigmentet, samt färgämne ur hår synes phymatorhusinet således hafva ingen eller mycket aflägsen slägtskap.

Tvänne frågor, som förut blifvit framstälda, men ännu ej fått ett afgörande svar, anser jag mig böra framdraga, dock ej för att afgöra dem, utan mera för att hålla dem öppna för fortsatta undersökningar. Dessa frågor gälla phymatorhusinets ursprung och huruvida det är ett helt och hållet patologiskt färgämne, eller om det äfven produceras af den friska organismen, ehuru i mindre mängd.

Den första af dessa frågor besvara BERDEZ & NENCKI helt lättvindigt (s. 357) så, att det ej als finnes något kemiskt samband mellan melanosarkomfärgämnena och blodfärg-

ämnet, ty hematinet innehåller järn men ej svafvel. Det af mig undersökta phymatorhusinet innehöll järn i rätt betydlig mängd, nämligen ungefär hälften så mycket som hämoglobinet och högst sannolikt var äfven färgämnet i BERDEZ & NENCKIS fall från början järnhaltigt, och den ena länken i deras bevisföring blifver således utan betydelse, och så är äfven fallet med den andra, ty det kan väl näppeligen anses berättigadt att med ordet blodfärgämne mena hematinet, som är en sönderdelningsprodukt af det normala färgämnet, hemoglobinet, och detta är svafvelhaltigt, om också i lägre grad än ägghvitekropparna. Ägghviteämnena, hvilka BERDEZ & NENCKI (sid. 360) antaga vara modersubstansen för phymatorhusinet, äro ej häller de ens närmelsevis så svafvelhaltiga som detta färgämne. Att härleda phymatorhusinets svafvel från svaflet i någon ägghvitekropp faller sig därför föga lättare än att tänka sig dess ursprung från hemoglobinets svafvel. BERDEZ & NENCKIS bevisföring anser jag således ej vara bindande och för min del tror jag, på grund af phymatorhusinets järnhalt, att det uppstår genom en omsättning af hemoglobinet eller med hemoglobinet har ett beslägtadt uppkomstsätt. VOSSIUS, som i flere fall af melanotiska svulster i ögat kunnat mikroskopiskt påvisa järn i de pigmenterade cellerna, drager däraf den slutsatsen att pigmentet i melanotiska tumörer åtminstone ofta härstammar från hemoglobinet.

På grund af histologiska undersökningar har denna åsigt förut blifvit uttalad af flere författare såsom RINDFLEISCH, LANGHAUS, GUSSENBAUER, NEPVEU m. fl., men äfven af flere andra såsom VIRCHOW, BAUMGARTEN, FUCHS m. fl. blifvit dragen i tvifvelsmål. Om pigment i så riklig mängd, som här var fallet, bildas af blodfärgämnet, så kunde man vänta sig att finna dettas mängd i blodet vara minskad, men så var icke fallet. De två gånger då blodets hemoglobinhalt bestämdes var den ej abnormt låg (resp. 15,4 och 14,7 %) och de röda blodkropparnes antal var hvarken vid dessa tidpunkter ej häller vid andra tillfällen, då det bestämdes, minskadt utan snarare tvärt om. Den abnormitet jag fann i hemoglobinets relativa förmåga att absorbera ljuset i de undersökta spektralregionerna vill jag endast hänvisa på utan att deraf våga draga den slutsatsen, att hemoglobinet i detta fall var af abnorm beskaffenhet. En fråga, som nära sammanhänger med den om färgämnets ursprung, är den, huru färgämnet kan öfvergå i urinen. Om man antoge, att färg-

ämnet bildades på annat ställe än i svulsterna och sedan deponerades i dem, en möjlighet som VIRCHOW framhållit, så vore det lätt förklarligt, att en del af färgämnet (eller dess kromogen) kunde öfvergå i urinen. Emellertid då direkta iakttagelser af LANGHANS, NEPVEU och VOSSIUS visa, att röda blodkroppar stadda i undergång kunna finnas i svulsterna, att sönderdelning af blodfärgämnet samt bildning af svulstpigmentet åtminstone till en del (kanske helt och hållet) kan ega rum inom svulsten, har man större anledning att fråga, om pigmentet från svulsterna kan öfvergå i cirkulationen och sedermera elimineras med urinen. Det af mig undersökta färgämnet var så lättlösligt i alkalikarbonater och dialkalifosfat, att det icke als är osannolikt, att det kunde förekomma i löst form i blodet. Äfven dess öfvergång i urinen innebär ej någon orimlighet, då lösningen i fosfat kunde göras sur (amfotert sur) med saltsyra, utan att färgämnet fäldes ut. För ett sådant antagande talar äfven några kliniska iakttagelser, nämligen uppgifterna hos PŘIBRAM & GANGHOFNER, att såväl de som DOLBEAU sett, att melanotiska tumörer, äfven sådana af valnöts storlek, resorberats med pigment och allt, hvilken resorption synes hafva försiggått lätt och hastigt.

Den andra frågan, som jag häntydde på, gälde, huruvida pigment, som förekomma hos patienter med melanotiska svulster, äfven hafva sin motsvarighet under normala förhållanden. Det är särskildt med hänsyn till det af EISELT påvisade kromogenet i urinen, som HOPPE-SEYLER och äfven VIRCHOW framkastat den möjligheten, att förändringarne i urinen kunna vara kvantitativa snarare än kvalitativa. Då detta kromogen ej förekom i urinen från den af mig observerade patienten, har jag ej någon anledning att inlåta mig på nämnda fråga. Emellertid gifver den mig anledning att tänka på, huruvida det af mig undersökta pigmentet, phymatorhusinet, har någon motsvarighet inom den normala organismen eller vid andra patologiska processer än bildning af melanotiska sarkom. Afgörandet af denna fråga förutsätter en något så när fullständig kännedom om de färgämnen, som normalt finnas inom organismen eller i dess sekret, men just om de färgämnen, som det för denna fråga skulle vara vigtigast att känna, nämligen de normala urinfärgämnena och de färgämnen, som kunna erhållas såsom sönderdelningsprodukter af kromogener i urinen, känner man ännu föga, och det skulle vara att gå alt för långt öfver gränserna för detta

arbete att här försöka utreda deras kemi. Emellertid har jag ansett mig böra undersöka, om jag med det framställningssätt, jag användt för phymatorhusinet, kunde erhålla något liknande färgämne ur normal urin och ur urin från sjuka. I några sådana försök, då jag fält urin från friska personer samt från feberpatienter och en mörkfärgad urin från en person med cancer ventriculi med barytvatten, har fällningen innehållit endast helt obetydliga mängder färg, hvilken dessutom ej förhållit sig såsom phymatorhusinet. Då jag vid bearbetningen af urin från melanosarkompatienten återfunnit phymatorhusinet hufvudsakligen i barytfällningen, visade sig denna urin åtminstone i detta afseende vara abnorm. Med blyacetat fälles ur all urin rikligt med färgämnen och kromogener. Att undersöka om det ur denna fällning låter framställa sig något phymatorhusin är därför förenadt med mycken svårighet. Ur blyacetatfällningen ur urin från friska och från personer med olika sjukdomar, har jag visserligen ej lyckats isolera något färgämne, som i allo synes öfverensstämma med phymatorhusinet, men jag har dock därur erhållit preparat, som varit rika på svafvel och stundom äfven järnhaltiga. Jag måste derför lämna frågan oafgjord, huruvida man ej ur denna fällning kan framställa färgämnen, som hafva slägtskap med phymatorhusinet.

FÖRKLARING TILL TAFLORNA.

Taflan I.

Kurvor N:o 1 och 2. Färgämne ur barytfällningen ur urinen; olösligt i stark ättiksyra.

Kurva N:o 3. Färgämne ur blyacetatfällningen ur urinen; olösligt i stark ättiksyra.

Kurvor N:o 4 och 5. Färgämne ur svulsterna; olösligt i stark ättiksyra.

Taflan II.

Kurva N:o 1. Färgämne ur barytfällningen ur urinen; lösligt i stark ättiksyra.

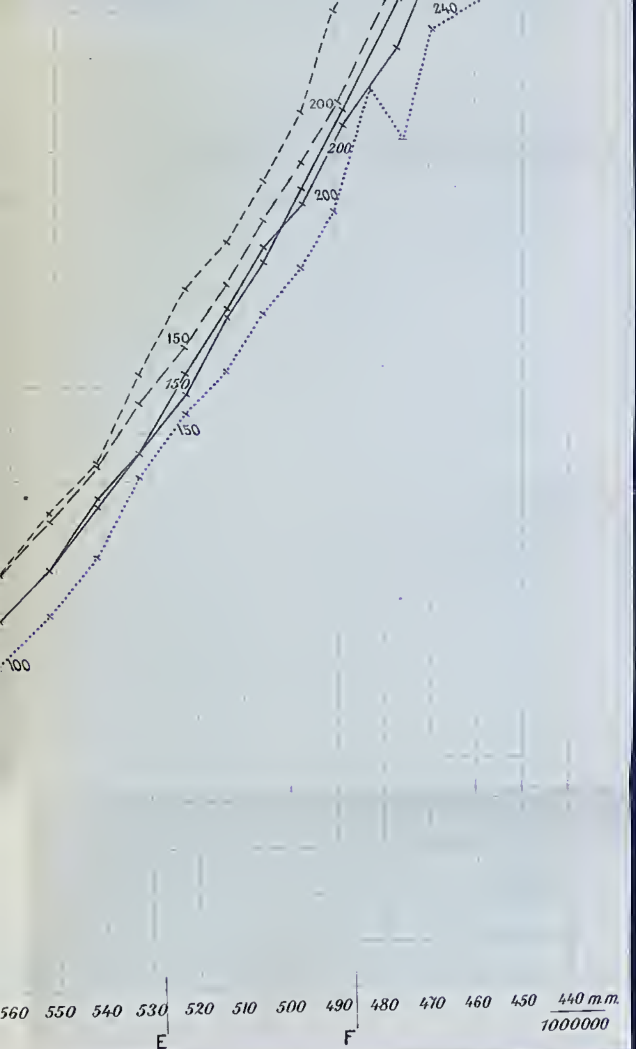
Kurva N:o 2. Färgämne ur blyacetatfällningen ur urinen; lösligt i stark ättiksyra.

Kurvor N:o 3 och 4. Färgämne ur svulsterna; lösligt i stark ättiksyra.

Kurva N:o 5. Normal urin.

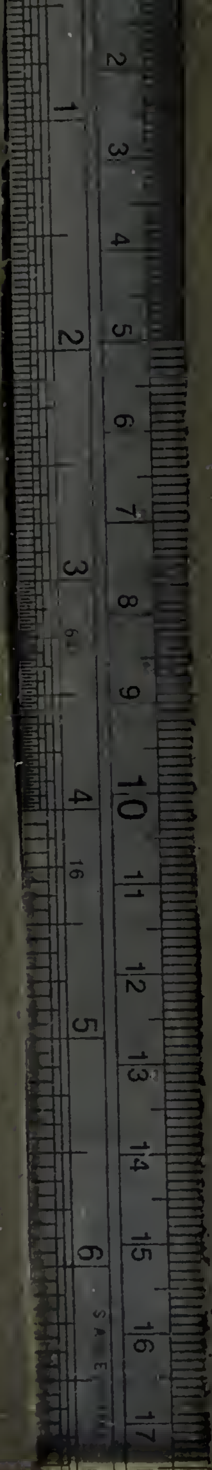
Litteraturhänvisningar.

BERDEZ & NENCKI: Archiv f. exper. Pathologie u. Pharmacologie 1886. Bd XX s. 346.
BERZELIUS: Lehrbuch der Chemie. 3 Aufl. 1840. Bd IX s. 522.
DRESSLER: 1) Vierteljahrschrift f. d. prakt. Heilkunde. Prag 1865. Bd LXXXVIII s. 9.
2) D:o D:o. Prag 1869. Bd CI s. 59.
EBERTH: Archiv f. path. Anatomie u. Physiologie u. f. klin. Medicin 1873. Bd LVIII s. 58.
EISELT: 1) Vierteljahrschrift f. d. prakt. Heilkunde. Prag 1861. Bd LXX s. 107.
2) D:o D:o. Prag 1862. Bd LXXVI s. 16.
FLOYD: Journal of the chemical society. London 1877. Vol. I s. 329.
GANGHOFNER & PŘIBRAM: Vierteljahrschrift f. d. prakt. Heilkunde. Prag 1876. Bd CXXX s. 77.
HAMMARSTEN: Zeitschrift f. physiolog. Chemie 1885. Bd IX s. 273.
HEINTZ: Archiv f. pathol. Anatomie u. Physiologie u. f. klin. Medicin 1847. Bd. I s. 477.
HOPPE-SEYLER: Archiv f. pathol. Anatomie u. Physiologie u. f. klin. Medicin 1863. Bd XXVII s. 388.
HÜFNER: Journal f. prakt. Chemie 1877. Bd XVI s. 290.
KREUSLER: Zeitschrift f. analytische Chemie 1885. Bd XXIV s. 445.
NEPVEU: Mémoires de la société de biologie 1872. Bd XXIV s. 3.
OTTO: 1) Christiania Videnskabsselskabs Forhandlinger 1882. N:r 25.
2) D:o D:o 1883. N:r 3.
PLÓSZ: Zeitschrift f. physiolog. Chemie 1883. Bd VIII s. 85.
PŘIBRAM: Vierteljahrschrift f. d. prakt. Heilkunde. Prag 1865. Bd LXXXVIII s. 16.
ROSOW: Archiv f. Ophtalmologie 1863. Bd IX. Abth. III s. 63.
SCHERER: Annalen d. Chemie u. Pharmacie 1841. Bd XV s. 63.
SCHLOSSBERGER: Lehrbuch d. org. Chemie. 5 Aufl. 1860 s. 925.
SIEBER: Archiv f. exper. Pathologie u. Pharmacologie 1886. Bd XX s. 362.
SIMON: Handbuch d. angew. medic. Chemie 1840. Bd I s. 347.
VIERORDT: 1) Die Anwendung d. Spektralapparates zur Messung und Vergleichung der Stärke d. farbigen Lichtes. Tübingen 1871.
2) Die Anwendung des Spektralapparates zur Photometrie der Absorptionsspectren. Tübingen 1873.
3) Die quantitative Spektralanalyse. Tübingen 1876.
VIRCHOW: Die krankhaften Geschwülste 1864—65. Bd II s. 271.
VOSSIUS: Archiv f. Ophtalmologie 1885. Bd XXXI. Abth. II s. 161.



240
200
200
200
150
150
150
100
560 550 540 530 520 510 500 490 480 470 460 450 440 m.m./1000000
E
F


N°V
D.L
D
CCCCL
CCCC
N°1
340
CCCL
N°2
300
300
300
N°3
CCC
N°4
250
250
250
CL
200
200
200
CC
150
150
150
CL
100
100
100
C
50
50
50
L
N°2
N°1
N°4
N°3
N°V
690 680 670 660 650 640 630 620 610 600 590 580 570 560 550 540 530 520 510 500 490 480 470 460 450 440 m m
1000000
B
C
D
E
F





FO FOLD OUT HERE